

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Petra SELJAK

**VPLIV RAZLIČNIH SEVOV KVASOVK IN
FERMENTACIJSKE TEMPERATURE NA SESTAVO
IN SENZORIČNO KAKOVOST MLADIH VIN SORTE
SAUVIGNON**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Petra SELJAK

**VPLIV RAZLIČNIH SEVOV KVASOVK IN FERMENTACIJSKE
TEMPERATURE NA SESTAVO IN SENZORIČNO KAKOVOST
MLADIH VIN SORTE SAUVIGNON**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**THE INFLUENCE OF DIFFERENT YEAST STRAINS AND
FERMENTATION TEMPERATURE ON THE COMPOSITION AND
SENSORY QUALITY OF WINE VARIETY SAUVIGNON**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo v laboratoriju za vinarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, na Katedri za tehnologije, prehrano in vino.

Komisija za 1. in 2. stopnjo študija živilstva in prehrane Oddelka za živilstvo je za mentorico diplomskega dela imenovala prof. dr. Tatjano Košmerl, za somentorico doc. dr. Heleno Prosen in za recenzenta prof. dr. Rajka Vidriha.

Mentorica: prof. dr. Tatjana Košmerl

Somentorica: doc. dr. Helena Prosen

Recenzent: prof. dr. Rajko Vidrih

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Petra Seljak

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
DK UDK 663.252/.253:582.282.3:543.61:543.92(043)=163.6
KG sauvignon/ mošt/ mlado vino/ starterske kulture/ vinske kvasovke/ alkoholna fermentacija/ fizikalno-kemijske lastnosti/ kemijska sestava/ senzorične lastnosti
AV SELJAK, Petra
SA KOŠMERL, Tatjana (mentorica)/ PROSEN, Helena (somentorica)/ VIDRIH, Rajko (recenzent)
KZ SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI 2011
IN VPLIV RAZLIČNIH SEVOV KVASOVK IN FERMENTACIJSKE TEMPERATURE NA SESTAVO IN SENZORIČNO KAKOVOST MLADIH VIN SORTE SAUVIGNON
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP XIII, 62 str., 8 pregl., 28 sl., 10 pril., 45 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Namen diplomskega dela je bil raziskati, kako različne starterske kulture vinskih kvasovk vplivajo na končno kakovost pridelanega vina sorte sauvignon, letnika 2010, iz vinorodne dežele Podravje, vinorodnega okoliša Štajerska Slovenija. Pri fermentacijskem poskusu smo uporabili šest različnih starterskih kultur suhih aktivnih kvasovk. Vsaka posamezna kvasovka je bila med alkoholno fermentacijo (AF) izpostavljena kontrolirani temperaturi in temperaturi kleti. Po končani AF smo v mladem vinu določili fizikalno-kemijske parametre, kot so: vrednost pH, pufrno kapaciteto, koncentracijo skupnih (titrabilnih) kislin, relativno gostoto in koncentracije alkohola, skupnega ekstrakta ter sladkorja prosti ekstrakt, koncentracije reducirajočih sladkorjev, skupnega in prostega žveplovega dioksida, hlapnih kislin, prostega aminokislinskega dušika in skupnih fenolnih spojin. Spektrofotometrično smo določili barvo vina in turbidimetrično motnost v vinu. S HPLC metodo smo določili koncentracije glukoze in fruktoze, glicerola ter organskih kislin. Aromatične spojine smo kvalitativno določili s pomočjo SPME in GC-MS metode. Po opravljenih laboratorijskih meritvah smo vzorce vin še senzorično ocenili. Vinske kvasovke, ki so bile izpostavljene med fermentacijo temperaturi kleti, so v povprečju vplivale na večjo dejansko pufrno kapaciteto, relativno gostoto, večje vsebnosti skupnega suhega in sladkorja prostega ekstrakta, hlapnih kislin in skupnih fenolnih spojin ter vinsko kislino. Večjo vsebnost glicerola smo določili v vzorcih, ki so bili izpostavljeni kontrolirani nižji temperaturi alkoholne fermentacije. Prav tako so bili ti vzorci senzorično bolje ocenjeni kot vzorci, izpostavljeni višji nekontrolirani temperaturi.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ŠD Dn
DC UDC 663.252/.253:582.282.3:543.61:543.92(043)=163.6
CX sauvignon/ must/ young wines/ starter culture/ wine yeast/ alcoholic fermentation/ physicochemical properties/ chemical composition/ sensory properties
AU SELJAK, Petra
AA KOŠMERL, Tatjana (supervisor)/ PROSEN, Helena (co-advisor)/ VIDRIH, Rajko (reviewer)
PB SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA University of Ljubljani, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
PY 2011
TI THE INFLUENCE OF DIFFERENT YEAST STRAINS AND FERMENTATION TEMPERATURE ON THE COMPOSITION AND SENSORY QUALITY OF WINE VARIETY SAUVIGNON
DT Graduation Thesis (University studies)
NO XIII, 62 p., 8 tab., 28 fig., 10 ann., 45 ref.
LA sl
AL sl/en
AB The main purpose of this graduation thesis was to investigate how different starter culture wine yeasts affect the final quality of wine Sauvignon vintage 2010, from wine-growing region Podravje, district Štajerska Slovenija. In the fermentation experiment, we used six different starter cultures of active dry wine yeasts. Every single wine yeast was during the alcoholic fermentation exposed to lower controlled temperature and higher cellar temperature. At the end of the alcoholic fermentation the following physico-chemical parameters were measured: pH, buffer capacity, concentration of total (titratable) acids, relative density, concentrations of alcohol, total dry and sugar-free extract, concentrations of reducing sugars, total and free sulfur dioxide, volatile acids, free amino nitrogen and total phenolic compounds. The color was measured by spectrophotometer and turbidity was determined by turbidimeter. The HPLC method was used for the determination of glucose, fructose, glycerol and organic acids concentrations. Aromatic compounds were qualitatively determined by SPME and GC-MS method. Sensory evaluation of wine was performed after laboratory measurements. Wine yeasts, exposed to higher fermentation temperature, affect the higher on average buffer capacity, relative density, total dry and sugar-free extract, volatile acid, total phenolic compounds and tartaric acid. Higher content of glycerol was determined in samples that were exposed to lower controlled temperature of alcoholic fermentation. Also, these samples have better sensory properties than samples exposed to higher uncontrolled temperature.

KAZALO VSEBINE

| | |
|---|-------------|
| KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA..... | III |
| KEY WORDS DOCUMENTATION | IV |
| KAZALO VSEBINE | V |
| KAZALO PREGLEDNIC | VIII |
| KAZALO SLIK | IX |
| KAZALO PRILOG | XII |
| OKRAJŠAVE IN SIMBOLI | XIII |
| 1 UVOD..... | 1 |
| 1.1 NAMEN DELA..... | 1 |
| 1.2 DELOVNA HIPOTEZA | 2 |
| 2 PREGLED OBJAV..... | 3 |
| 2.1 GROZDNI MOŠT - SUBSTRAT ZA RAST KVASOVK | 3 |
| 2.1.1 Sladkorji | 3 |
| 2.1.2 Dušikove spojine | 3 |
| 2.1.3 Ostale komponente | 4 |
| 2.2 ALKOHOLNA FERMENTACIJA MOŠTA | 5 |
| 2.2.1 Metabolizem sladkorjev | 5 |
| 2.2.2 Metabolizem dušika..... | 8 |
| 2.2.3 Metabolizem žveplovih spojin | 8 |
| 2.2.4 Vzporedni metabolni produkti..... | 9 |
| 2.2.5 Glicerol, organske in maščobne kisline..... | 9 |
| 2.3 VINSKE KVASOVKE IN NJIHOVA VLOGA MED AF | 10 |
| 2.3.1 Splošne značilnosti vinskih kvasovk | 10 |
| 2.3.2 Ekološke in metabolne lastnosti vinskih kvasovk..... | 11 |
| 2.4 STARTERSKE KULTURE VINSKIH KVASOVK | 12 |
| 2.4.1 Osnovne lastnosti starterskih kultur vinskih kvasovk..... | 13 |
| 2.4.2 Zahteve za industrijsko produkcijo starterskih kultur | 14 |
| 2.4.3 Inokulacija starterskih kultur | 15 |
| 3 MATERIALI IN METODE DELA..... | 17 |
| 3.1 ZASNOVA POSKUSA..... | 17 |
| 3.2 MATERIALI..... | 18 |
| 3.2.1 Mošt | 18 |
| 3.2.2 Kvasovke | 18 |
| 3.2.3 Raztopine in reagenti | 19 |
| 3.2.4 Oprema in aparature | 20 |
| 3.2.5 Nastavitve fermentacijskega poskusa | 21 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 3.3 | KEMIJSKE ANALIZE MOŠTA IN VINA | 21 |
| 3.3.1 | Določanje pH vina | 21 |
| 3.3.2 | Določanje pufrne kapacitete v vinu | 21 |
| 3.3.3 | Določanje skupnih (titrabilnih) kislin v vinu | 21 |
| 3.3.4 | Določanje relativne gostote, ekstrakta in alkohola v vinu | 22 |
| 3.3.5 | Določanje reducirajočih sladkorjev v vinu | 23 |
| 3.3.6 | Določanje žveplovega dioksida v vinu | 23 |
| 3.3.7 | Določanje hlapnih kislin v vinu | 24 |
| 3.3.8 | Določanje prostega aminokislinskega dušika (FAN) v vinu | 24 |
| 3.3.9 | Določanje skupnih fenolnih spojin v vinu | 25 |
| 3.3.10 | Določanje intenzitete barve vina | 25 |
| 3.3.11 | Določanje motnosti v vinu..... | 25 |
| 3.3.12 | Določanje vsebnosti sladkorjev in glicerola v vinu..... | 25 |
| 3.3.13 | Določanje vsebnosti organskih kislin v vinu | 26 |
| 3.3.14 | Kvalitativno določanje hlapnih aromatičnih snovi v vinu | 26 |
| 3.3.15 | Senzorične lastnosti vina | 27 |
| 4 | REZULTATI IN RAZPRAVA | 28 |
| 4.1 | REZULTATI ANALIZ MOŠTA | 28 |
| 4.2 | REZULTATI ANALIZ VINA | 28 |
| 4.2.1 | Rezultati vrednosti pH vina | 28 |
| 4.2.2 | Rezultati pufrne kapacitete vina | 29 |
| 4.2.3 | Rezultati skupnih (titrabilnih) kislin v vinu..... | 30 |
| 4.2.4 | Rezultati relativne gostote vina | 31 |
| 4.2.5 | Rezultati alkohola v vinu | 32 |
| 4.2.6 | Rezultati skupnega in sladkorja prostega ekstrakta v vinu | 33 |
| 4.2.7 | Rezultati reducirajočih sladkorjev v vinu | 35 |
| 4.2.8 | Rezultati prostega in skupnega žveplovega dioksida v vinu..... | 36 |
| 4.2.9 | Rezultati hlapnih kislin v vinu..... | 37 |
| 4.2.10 | Rezultati FAN v vinu | 38 |
| 4.2.11 | Rezultati skupnih fenolnih spojin v vinu..... | 38 |
| 4.2.12 | Rezultati intenzitete barve vina..... | 39 |
| 4.2.13 | Rezultati motnosti v vinu | 40 |
| 4.2.14 | Rezultati fruktoze in glukoze v vinu | 41 |
| 4.2.15 | Rezultati glicerola v vinu | 42 |
| 4.2.16 | Rezultati organskih kislin v vinu..... | 43 |
| 4.2.16.1 | Rezultati vinske kisline v vinu | 43 |
| 4.2.16.2 | Rezultati jabolčne kisline v vinu | 44 |
| 4.2.16.3 | Rezultati mlečne kisline v vinu | 45 |
| 4.2.16.4 | Rezultati jantarne kisline v vinu..... | 46 |
| 4.2.17 | Učinkovitost fermentacije | 47 |
| 4.2.18 | Rezultati hlapnih aromatičnih snovi v vinu | 47 |
| 4.2.19 | Senzorično ocenjevanje vina..... | 51 |
| 4.2.19.1 | Težka tropska aroma | 51 |
| 4.2.19.2 | Sveža tropska aroma..... | 52 |
| 4.2.19.3 | Fermentacijska aroma | 52 |
| 4.2.19.4 | Prekrivanje sortnih arom | 53 |

| | | |
|----------------|--------------------------|-----------|
| 4.2.19.5 | Celokupna kakovost | 53 |
| 5 | SKLEPI | 55 |
| 6 | POVZETEK | 57 |
| 7 | VIRI | 59 |
| ZAHVALA | | |
| PRILOGE | | |

KAZALO PREGLEDNIC

| | |
|---|----|
| Preglednica 1: Vitamini v grozdju/ moštu/ vinu in njihovo delovanje (Košmerl, 2007a)..... | 4 |
| Preglednica 2: Skupine aminokislin glede na hitrost absorpcije v celico (Jiranek in sod., 1995)..... | 8 |
| Preglednica 3: Ekološke in metabolne lastnosti vinskih kvasovk (Košmerl, 2007a)..... | 12 |
| Preglednica 4: Osnovni selekcijski kriteriji vinskih kvasovk in cilji (Košmerl, 2007a)..... | 12 |
| Preglednica 5: Želene značilnosti starterskih kultur vinskih kvasovk (Košmerl, 2007a) ... | 14 |
| Preglednica 6: Oznaka vzorcev, komercialno ime kvasovk, količina dodatka in fermentacijska temperatura..... | 19 |
| Preglednica 7: Osnovni kemijski parametri mošta sorte sauvignon 2010..... | 28 |
| Preglednica 8: Primerjalni rezultati aromatičnih snovi v mladem vinu, ki so bile kvalitativno določene v vzorcih vina (ploščina kromatografskega vrha/10 ⁶) | 48 |

KAZALO SLIK

| | |
|--|----|
| Slika 1: Metabolizem glukoze in fruktoze pri kvasovkah vrste <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Boulton in sod., 1996)..... | 7 |
| Slika 3: Vrednost pH v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah..... | 29 |
| Slika 4: Vrednost dejanske pufrne kapacitete (mmoL/L/pH) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah..... | 30 |
| Slika 5: Vsebnost skupnih in titrabilnih kislin (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah..... | 31 |
| Slika 6: Relativna gostota v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah..... | 32 |
| Slika 7: Vsebnost alkohola (vol.%) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah..... | 33 |
| Slika 8: Vsebnost skupnega ekstrakta (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah..... | 34 |
| Slika 9: Vsebnost sladkorja prostega ekstrakta (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah..... | 34 |
| Slika 10: Vsebnost reducirajočih sladkorjev (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah..... | 35 |
| Slika 11: Vsebnost žveplovega dioksida (mg/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah..... | 36 |
| Slika 12: Vsebnost hlapnih kislin (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah..... | 37 |
| Slika 13: Vsebnost FAN (mg N/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah..... | 38 |

| | |
|---|----|
| Slika 14: Vsebnost fenolnih spojin (mg/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 39 |
| Slika 15: Intenziteta barve pri A 420 nm v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 40 |
| Slika 16: Vrednost motnosti (NTU) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 41 |
| Slika 17: Vsebnosti fruktoze in glukoze (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 42 |
| Slika 18: Vsebnost glicerola (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 43 |
| Slika 19: Vsebnost vinske kisline (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 44 |
| Slika 20: Vsebnost jabolčne kisline (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 45 |
| Slika 21: Vsebnost mlečne kisline (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 46 |
| Slika 22: Vsebnost jantarne kisline (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 46 |
| Slika 23: Učinkovitost alkoholne fermentacije (g RS/vol.%) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 47 |
| Slika 24: Ocenjevanje težke tropske arome (točke 1-5) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 51 |
| Slika 25: Ocenjevanje sveže tropske arome (točke 1-5) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 52 |

| | |
|---|----|
| Slika 26: Ocenjevanje fermentacijske arome (točke 1-5) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 52 |
| Slika 27: Ocenjevanje prekrivanja sortnih arom (točke 1-5) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 53 |
| Slika 28: Ocenjevanje celokupne kakovosti (točke 1-5) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah | 53 |

KAZALO PRILOG

Priloga A: Rezultati fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji v vzorcih 1 in 1'

Priloga B: Rezultati fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji v vzorcih 2 in 2'

Priloga C: Rezultati fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji v vzorcih 3 in 3'

Priloga D: Rezultati fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji v vzorcih 4 in 4'

Priloga E: Rezultati fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji v vzorcih 5 in 5'

Priloga F: Rezultati fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji v vzorcih 6 in 6'

Priloga G: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu 2

Priloga H: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu 2'

Priloga I: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu 6

Priloga J: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu 6'

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

| | |
|------------------|---|
| A ₄₂₀ | absorbanca pri 420 nm |
| ADY | suhe aktivne kvasovke (ang. active dry yeast) |
| AF | alkoholna fermentacija |
| AOAC | Association of Official Analytical Chemists |
| CFU | za rast sposobne celice kvasovk ali bakterij, kolonijska enota (ang. colony forming unit) |
| FAN | prosti aminokislinski dušik (ang. free amino nitrogen) |
| GC-MS | plinska kromatografija z masno spektrometrično detekcijo |
| MK | maščobna kislina |
| NTU | nefelometrična turbidimetrična enota (ang. nephelometric turbidity unit) |
| RS | reducirajoči sladkorji |
| O.I.V. | International Organisation of Vine and Wine |
| SE | skupni ekstrakt |
| SPE | sladkorja prosti ekstrakt |
| SPME | mikroekstrakcija na trdno fazo |
| T | temperatura |

1 UVOD

Uporaba suhih aktivnih kvasovk (ADY, active dry yeast) je zaradi svoje izrazite enostavnosti v zadnjih letih postala stalna praksa v večini vinarskih kletah po vsem svetu. Z uporabo ADY lahko na zelo enostaven način moštu dodamo nastavek z do 10 milijonov živih celic kvasovk na mililiter mošta (do $1 \cdot 10^7$ CFU/mL), kar je veliko večje število kvasovk kot v avtohtoni mikroflori, ki jo najdemo v moštu po razsluzenju (Raspor, 2002). Samo na tak način lahko zagotovimo nadaljnje razmnoževanje kvasovk, ki smo jih moštu dodali oziroma njihovo prevlado nad avtohtono mikrofloro, kar je pogoj za boljše vodenje fermentacije ter za izboljšanje in standardizacijo kakovosti vina.

Osnovna naloga kvasovk je alkoholna fermentacija. Osnovni metabolizem kvasovk vključuje sintezo etanola iz sladkorja, vendar ima ADY sev povsem specifične karakteristike za tvorbo sekundarnih produktov fermentacije, ki izboljšajo kakovost vinske arome. Prav te specifične karakteristike kvasovk pa so s strani enologov zelo iskane. Pri selekciji vseh kvasovk se posebna pozornost posveča osnovnim karakteristikam, kot so majhna tvorba žveplovih spojin, nezaželenih polifenolov, oetne kisline, etil acetata, itd.

Avtohtono mikrofloro namreč sestavljajo različni sevi kvasovk, med katerimi so tudi taki, ki zelo negativno vplivajo na kakovost vina. Kot primer lahko navedem kvasovke z oksidativnim metabolizmom (rod *Rhodotorula*) in kvasovke, ki tvorijo manjše koncentracije alkohola in veliko oetne kisline (rodova *Pichia*, *Kloeckera*). Kvasovke, ki imajo glavno vlogo pri alkoholni fermentaciji so kvasovke rodu *Saccharomyces*, oziroma njihovi fiziološki sevi vrst *S. cerevisiae* (*S. cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *S. ellipsoideus*, *S. vini*), *S. bayanus* in *S. uvarum*.

Saccharomyces je najpomembnejša vinska kvasovka. Predstavlja velik delež kvasovk ob koncu fermentacije, kar 80 do 98 %. Je okrogle, elipsoidne oblike, ima veliko fermentacijsko aktivnost in dobro odpornost na etanol (aktivna koncentracija je v območju 8-15 vol.% alkohola). Med zorenjem in staranjem vina pa izgine. Znotraj vrste so selekcionirani sevi kvasovk, ki so sposobni tvoriti večje koncentracije estrov in višjih alkoholov. Pri veliki koncentraciji sladkorjev in nizkem pH tvori veliko oetne kisline (Klenar, 2002).

1.1 NAMEN DELA

Vinske kvasovke so mikroorganizmi, ki so prisotne v vsakem moštu in pri vsaki alkoholni fermentaciji. Njihova naloga je, da vodijo in zaključijo proces fermentacije ter tako vplivajo na specifične lastnosti vina. Pomembno vlogo imajo tudi pri oblikovanju aromatičnih lastnosti vina, zato je za zaželeno kakovost vina izbor primernega seva kvasovk izrednega pomena.

Z inokulacijo različnih vinskih kvasovk v mošt sorte sauvignon želimo ugotoviti, kako bo posamezna kvasovka, pri dveh različnih fermentacijskih temperaturah vplivala na potek, trajanje in dokončanje alkoholne fermentacije. Prav tako smo želeli preveriti vpliv posamezne kvasovke na končno izoblikovanje sortne in fermentacijske arome vina. Za

določitev končne kakovosti pridelanih mladih vin smo opravili številne fizikalno-kemijske analize ter kvalitativno in opisno senzorično analizo posameznega vzorca vina.

1.2 DELOVNA HIPOTEZA

V okviru uporabljenih šestih različnih kvasovkah pričakujemo razlike v kinetiki alkoholne fermentacije in osnovni sestavi pridelanih mladih vin. Razlike v fizikalno-kemijskih parametrih in senzorični kakovosti pridelanih vin bodo najverjetneje tudi v povezavi z različno fermentacijsko temperaturo. Predpostavljamo, da se bodo uporabljene različne kvasovke najbolj značilno razlikovale v tvorbi hlapnih aromatičnih snovi.

2 PREGLED OBJAV

2.1 GROZDNI MOŠT - SUBSTRAT ZA RAST KVASOVK

Senzorične lastnosti vina so posledica kemijske sestave mošta, na katero vplivajo različni dejavniki: sorta grozdja, geoklimatske in vinogradniške razmere pri pridelavi grozdja, ekologija mikrobov na grozdju, med procesom fermentacije pa sama tehnologija pridelave vina (Fleet, 2003). Proces fermentacije in kemijska sestava grozdnega soka pa sta med naštetimi najpomembnejša.

2.1.1 Sladkorji

Poznavanje sestave grozdnega soka, kot substrata za rast kvasovk, je pomembno pri razumevanju metabolizma sladkorjev med fermentacijo, saj vpliva dostopnost hranil na metabolno aktivnost kvasovk. Na splošno vsebuje grozdni sok 140-260 g/L sladkorjev. Vsebnost sladkorjev narašča s podaljšanim zorenjem grozdja. Saharozna v grozdni jagodi se cepi v glukozo in fruktozo, zato je v grozdnem soku ekvimolarna koncentracija glukoze in fruktoze, saharozna pa je le v sledovih. Mošt vsebuje še manjše količine pentoz, a teh kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* ne porabljajo kot substrat za rast in energijo (Bisson in Fraenkel, 1983).

Rast kvasovk je odvisna od koncentracije sladkorjev. V odvisnosti od seva kvasovk rodu *Saccharomyces* obstajajo velike razlike v kinetiki porabe sladkorja, zlasti proti koncu fermentacije, ko so celice v pozni stacionarni fazi. Odmiranje kvasnih celic proti koncu fermentacije in s tem njena upočasnitev in/ali prekinitvev je močno povezano s količino sladkorja že v moštu, ob dodatnem pomanjkanju ostalih hranilnih snovi v osiromašenem vrelnem substratu (Košmerl, 2007a). Aktivnost transporta heksoz regulira dostopen dušik v mediju in sposobnost sinteze proteinov. Z osiromašenjem mošta na asimilacijskem dušiku, se transport heksoz zmanjša. To je v enologiji izredno pomembno, saj velja, da okrog 50 do 70 % alkoholne fermentacije poteče v stacionarni fazi rasti kvasovk (Salmon, 1989).

2.1.2 Dušikove spojine

Mošt vsebuje različne dušikove komponente, ki jih kvasovka lahko asimilira: prosti amonijev ion (NH_4^+), aminokisliline, peptide in krajše polipeptide. Aminokislinska sestava mošta je skupaj s koncentracijo sladkorjev in skupnih kislin glavni kakovostni parameter kemijske sestave mošta. Znano je, da je koncentracija skupnih in prostih aminokislin v pozitivni korelaciji s stopnjo zrelosti grozdja. Njihova vsebnost v moštu je odvisna od vinorodnega okoliša in prakse dela v vinogradu, zrelosti grozdja in tehnološkega procesa predelave grozdja v vino (Henschke in Jiranek, 1992). Količina skupnega dušika v moštu je od 98 do 1130 mg/L, povprečje 390 mg/L. Ob zrelosti predstavljajo amonijeve soli od 3 do 10 % skupnega dušika. Aminokisliline so med fermentacijo pomemben vir dušika za kvasovke, ki jih izkoriščajo za izgradnjo lastnih strukturnih in funkcijskih proteinov. Tako vplivajo na rast biomase, normalen potek fermentacije in sodelujejo pri tvorbi aromatičnih snovi vina.

V moštu pride velikokrat zaradi intenzivne obdelave grozdnega soka do pomanjkanja vira dušika v moštu. Potreba kvasovk po viru dušika se poveča tudi zaradi povečanih koncentracij sladkorjev v mediju (večji osmotski tlak). Grozdni sok lahko vsebuje veliko dušika ali pa je z njim omejen. Posledica omejitev z virom dušika je prezgodnja zaustavitev fermentacije oziroma počasen potek fermentacije (Salmon, 1989). Vsebnost dušika vpliva na hitrost porabe sladkorjev na dva načina, in sicer tako da vpliva na celokupno število celic oziroma regulira tok vira ogljika skozi glikolizo.

2.1.3 Ostale komponente

Mošt vsebuje tudi vitamine (preglednica 1) in minerale, fosfate ter soli v sledovih. Vitamini se v manjših koncentracijah nahajajo v grozdu, moštu in vinu. Njihova koncentracija upada z alkoholno fermentacijo in zorenjem, kot posledica reakcij z žveplovim dioksidom, vezave s čistili ali pa zaradi svetlobe in višje temperature.

Preglednica 1: Vitamini v grozdu/ moštu/ vinu in njihovo delovanje (Košmerl, 2007a)

| Vitamin | Ime | Delovanje na kvasovke |
|-----------------|--|---|
| B ₁ | tiamin | Deluje na encimsko dekarboksilazo. Deluje v sinergiji z vitaminom C. Pospesi rast in poveča biomaso. Koncentracija kvasovk 10 ⁵ -10 ⁶ CFU/mL lahko popolnoma porabi tiamin v 2-12 urah. |
| B ₂ | riboflavin | Aktivira encimski proces, tako preko oksidativne razgradnje piruvične kisline, maščobnih kislin in aminokislin kot preko izmenjave elektronov. |
| PP | niacin | Reducira tvorbo etilacetata. Kontrolira tvorbo keto kislin. V primeru pomanjkanja tega vitamina in vitaminov B ₅ in B ₆ pride do prekomerne porabe tiamina. Nadomestimo ga s triptofanom. |
| B ₅ | pantotenska kislina, kalcijev pantotenat | Njegov aktivni del koencim A (acetil) prenaša acilne skupine pri encimskih reakcijah, pri oksidaciji piruvične kisline in maščobnih kislin. |
| B ₆ | piridoksin | Ureja transaminacijo in tvorbo α -ketoglutarjeve kisline. |
| B ₁₂ | kobalamin, cianokobalamin | Ureja rast oziroma hitrost razmnoževanja kvasovk. Deluje v reakcijah dekarboksilacije in deaminacije. Deluje v sinergiji z vitaminom B ₅ . |
| H | biotin | Vpliva na razmnoževanje kvasovk, deluje v encimskih reakcijah dekarboksilacije in deaminacije. Ob pomanjkanju se spremeni glicerol-piruvična fermentacija, dodatno pa se zmanjša tudi tvorba jantarne kisline. |
| D ₂ | ergosterol | Faktor preživetja: pomaga kvasovki pri dokončnem povretju sladkorjev, stimulira tvorbo glicerola, zmanjša tvorbo oetne kisline in acetaldehida, spremeni aromatično strukturo vina. |

Koncentracija in razmerje med minerali v moštu je odvisno predvsem od privzema s koreninskim sistemom vinske trte, akumulacije v grozdu jagodi ter klimatskih razmerah. Minerali imajo vlogo kot sestavni deli vitaminov in encimov, sodelujejo pri izmenjavi hranil med kvasovkami in okoljem ter reagirajo z drugimi sestavinami, npr. tvorba soli (Bavčar, 2006).

Običajno sok vsebuje vsa hranila v dovolj velikih količinah za rast kvasovk, lahko pa mu primanjkuje komponent, ki so potrebne za toleranco na etanol in vzdrževanje porabe sladkorjev v stacionarni fazi. Gre za t.i. faktorje preživetja, to so steroli in nenasičene maščobne kisline, ki so potrebni za vzdrževanje integritete plazemske membrane

(Fugelsang, 1996). Kontrolirano aeriranje (zračenje) grozdnega soka pred začetkom fermentacije ali v zgodnjih fazah fermentacije deluje stimulatивно na rast kvasovk in fermentacijo, saj omogoča biosintezo lipidov (Blateyron in Sablayrolles, 2001). Manipuliranje s sestavo grozdnega soka (npr. dodatek SO₂) lahko vpliva na spekter končnih produktov, ki nastanejo med katabolizmom sladkorja.

Vrednost pH mošta niha med 3,0 in 4,0; to je odvisno predvsem od vinske in jabolčne kisline. Rast kvasovk vrste *S. cerevisiae* se upočasni, če pH pade iz vrednosti 3,5 na 3,0 (Fleet in Heard, 1992).

Med kislinami v moštu prevladujejo organske kisline, predvsem vinska, jabolčna in citronska kislina. Med alkoholno fermentacijo in po njej nastajajo še: očetna, propionska, piruvična, mlečna, jantarna, glikolna, galakturonska, glukonska, oksalna in fumarna kislina. Skupno vsebnost karboksilnih kislin v grozdnem soku, moštu in vinu, izrazimo kot g vinske kisline/L. V hladnih klimatskih področjih je vsebnost kislin večja (Košmerl in Kač, 2007).

Preostali dejavniki (npr. ostanki fungicidov, prisotnost plesni in mlečno- ter očetnokislinskih bakterij) so dosti manj raziskani. Znano je, da očetnokislinske bakterije ne inhibirajo v celoti rasti kvasovk, temveč vplivajo značilno le na rast kvasovk rodu *Saccharomyces*, kar je v povezavi s povečano tvorbo maščobnih kislin, vključno z očetno kislino (Košmerl, 2007a). Posledica teh vplivov je lahko počasna in/ali nepopolna fermentacija.

2.2 ALKOHOLNA FERMENTACIJA MOŠTA

Alkoholna fermentacija je osrednji proces v pridelavi vina, v katerem kvasovke pretvorijo sladkor, ki je prisoten v moštu, v alkohol. Ob tem nastaja tudi mnogo stranskih produktov, ki kasneje vplivajo na samo strukturo (glicerol) ter aromatiko (različni estri) vina. Kvasovke so odločilnega pomena tudi pri oblikovanju karakterja vin.

To je faza, ki nastopi takoj po drozganju grozdja ali odcejanju mošta. V tem času kvasovke, ki so na kožici jagode mirovale, preidejo v tekočino, v kateri je veliko sladkorja.

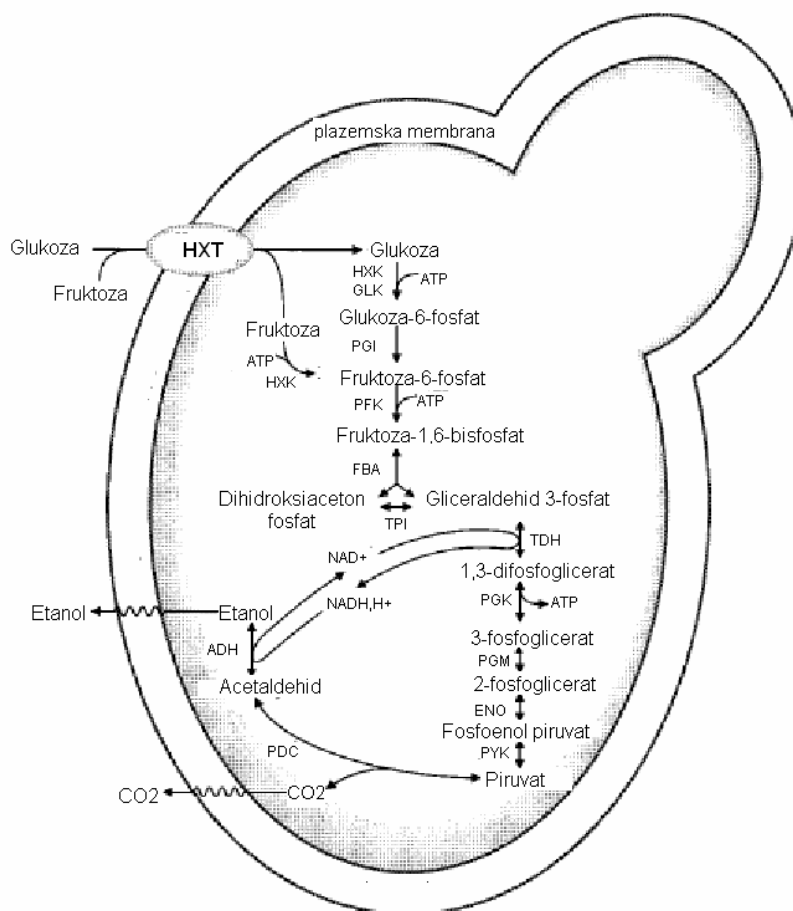
2.2.1 Metabolizem sladkorjev

Skozi celično steno in membrano kvasne celice lahko sladkorji vstopajo preko treh različnih mehanizmov: prosta difuzija, posredna (olajšana) difuzija in aktivni transport. Transport sladkorjev je zelo kompleksen in kontroliran, saj posedujejo kvasovke vrste *S. cerevisiae* multi-encimski sistem pri transportu glukoze, podobno kot višji organizmi (sesalci) (Boyer, 2005).

Kvasovke so kemo-organotrofi. Sladkorji so glavni vir ogljika in energije. Vinske kvasovke sladkor pretvorijo v glukozo in fruktozo, osnovna sladkorja v grozdnem soku, po Embden-Meyerhof-Parnasovi poti glikolize do piruvata. Vzporedno nastaja energija v obliki ATP ter tvorba intermediatov (Košmerl, 2007a). Z energijskega stališča lahko opredelimo dve fazi glikolize. Prvo polovico reakcij (reakcije 1-5) pojmuje kot »pripravljalno stopnjo«.

Potek prvega dela glikolize, se začne po vstopu glukoze (fruktoze) v celico: fosforilacija glukoze v glukozo-6-fosfat (G6P) z encimom heksokinaza (HXK) ali glukokinaza (GLK), pri tem se porabi ena molekula ATP, ki je donor fosfata; sledi izomeracija G6P v fruktozo-6-fosfat (F6P) z encimom fosfoglukoizomeraza (PGI); fosfofruktokinaza (PFK) fosforilira F6P v fruktozo-1,6-bifosfat ($F1,6P_2$), tu se porabi še ena molekula ATP; $F1,6P_2$ encim aldolaza (FBA) pretvori v dihidroksi-acetonfosfat (DHAP) in gliceraldehid-3-fosfat. Encim triozafosfat-izomeraza (TPI) reverzibilno pretvori DHAP v gliceraldehid-3-fosfat. Tako sta končna produkta prvega dela glikolize dve molekuli, gliceraldehid-3-fosfat in ATP (Boulton in sod., 1996; Boyer, 2005). Fruktoza pa vstopa v glikolizo po dveh različnih metabolnih poteh. Običajno je prisoten encim heksokinaza. Z eno samo fosforilacijo lahko fruktoza vstopi v glavni tok glikolize kot fruktoza-6-fosfat (Boyer, 2005).

V drugi polovici (reakcije 6-10) glikolize, ki ji lahko rečemo tudi »donosna faza«, se pretvori vsaka molekula gliceraldehid-3-fosfata v drug metabolit s tremi ogljikovimi atomi, v piruvat. Tu se povrne začetni vložek dveh molekul ATP, pridobimo pa še dve molekuli ATP. Poleg tega nastaneta tudi dva NADH. Potek: dve molekuli gliceraldehid-3-fosfata encim gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenaza fosforilira z anorganskim fosfatom (Pi) in s koencimom NAD^+ , nastaneta NADH in 1,3-bifosfoglicerat; fosfoglicerat-kinaza (PGK) katalizira nastanek 3-fosfoglicerata in ATP; fosfoglicerat-mutaza (PGM) pretvori 3-fosfoglicerat v 2-fosfoglicerat; tega pa enolaza (ENO) pretvori v fosfoenolpiruvat (PEP), ki ga nato encim piruvat kinaza (PYK) pretvori v končna produkta piruvat in ATP (Boulton in sod., 1996; Boyer, 2005).



Slika 1: Metabolizem glukoze in fruktoze pri kvasovkah vrste *Saccharomyces cerevisiae* (HXT (heksozni prenašalec), HXK (heksokinaza), GLK (glukokinaza), PGI (fosfoglukoza izomeraza), PFK (fosfofruktokinaza), FBA (aldolaza), TPI (triozofosfat izomeraza), TDH (gliceraldehid -3-fosfat dehidrogenaza), PGK (fosfoglicerat kinaza), PGM (fosfoglicerat mutaza, ENO (enolaza), PYK (piruvat kinaza), PDC (piruvat dekarboksilaza), ADH (alkohol dehidrogenaza)) (Boulton in sod., 1996)

Ker ima etanol nizek oksidacijsko-redukcijski potencial, omejuje zlasti plesni in oetnokislinske bakterije (Košmerl, 2007a).

Tvorba glavnih hlapnih komponent med alkoholno fermentacijo je odvisna predvsem od sestave mošta, fermentacijskih sprememb in inokuliranega seva kvasovk, kar potrjujejo številne raziskave (Thorhgate, 1998; Patel in Shibamoto, 2002). Pri inokulaciji istega seva kvasovk v moštu z različno sestavo (različnih sort) se tvorijo različne hlapne komponente, ki prispevajo k aromi belega vina, tvorijo med alkoholno fermentacijo. To so predvsem višji alkoholi, maščobne kisline, acetati, etilni estri, ketoni in aldehidi (Romano in sod., 2003).

2.2.2 Metabolizem dušika

Kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae* morajo med rastjo sintetizirati vse proteine, potrebne za rast in razvoj. Zato mora biti ob pomanjkanju aminokislin kvasovka sposobna tudi njihove sinteze. *S. cerevisiae* ima zato sposobnost transaminacije aminokislin in α -keto kislin.

Kvasovka lahko transportirano aminokislino direktno vključi v proteine ali pa uporabi kot vir ogljika po deaminaciji ali pa kot prekursor za drugo aminokislino. Prezem in metabolizem dušikovih komponent s kvasovkami vrste *S. cerevisiae* ni odvisen samo od seva kvasovk in njenih fizioloških pogojev, temveč tudi od kemijskih in fizikalnih lastnosti v okolju. *Saccharomyces cerevisiae* lahko raste na širokem spektru dušikovih komponent, vsebujoč amonijev ion, ureo, aminokislino, manjše peptide, purinske in pirimidinske baze (Košmerl, 2007a).

Asimilacijski vir dušika

Najpomembnejši vir dušika predstavlja arginin, ki daje 30-50 % celotnega dušika. Lizin, serin, treonin, levcin, aspartat in glutamat so naslednje aminokislino, ki se uporabijo. Glicin, tirozin, triptofan in alanin so zadnje transportirane aminokislino. Nepopolna poraba arginina je posledica prevzema amonijevega iona. Najbolj zaželen vir dušika je arginin, sledijo amonijev ion, serin, treonin, levcin in histidin. Med fermentacijo nastajajo iz razvejanih aminokislin višji alkoholi. Mehanizem vsebuje začetne transaminacije med aminokislino in α -keto kislinami z nadaljnimi dekarboksilacijami in redukcijami (Košmerl, 2003). Glavni del ogljikovih skeletov v proteinih pride iz eksogenih aminokislin oz. α -keto kislin iz metabolizma sladkorjev. Velik del deaminiranih aminokislin se izloči v medij oz. po dekarboksilaciji in redukciji pretvori v višje alkohole (Rapp in Versini, 1991). Glavni namen vseh dušikovih komponent, akumuliranih v kvasovki, je njihova razgradnja v amonijev ion oz. v glutamat (Košmerl, 2008). Ti dve komponenti sta glavna prekursorja vseh reakcij sinteze dušikovih komponent v kvasovki.

Preglednica 2: Skupine aminokislin glede na hitrost absorpcije v celico (Jiranek in sod., 1995)

| Skupina | Hitrost absorpcije | Amino kislina |
|---------|--|---|
| A | hitra absorpcija | arginin, asparagin, aspartat, glutamin, izolevcin, levcin, lizin, serin, treonin, NH_4^+ ion |
| B | počasna absorpcija | glutamat, alanin, histidin, metionin, fenilalanin, valin |
| C | absorpcija po izčrpanju mošta s skupinama A in B | glicin, triptofan, tirozin |
| D | delna oz. nič absorpcije | prolin |

2.2.3 Metabolizem žveplovih spojin

Metabolizem žveplovih spojin kvasovk vrste *S. cerevisiae* ima v enologiji vse večjo vlogo. Te komponente so v splošnem zelo reaktivne in zaznavne pri zelo majhnih koncentracijah. Kvasovka lahko vključi in metabolizira že prisotne žveplove snovi v moštu (sulfate, žveplo-vsebujoče aminokislino, glutation, tiamin, biotin), vendar pa lahko tudi tvori različne žveplove komponente in jih izloči v medij (sulfit, vodikov sulfid, dimetilsulfid, merkaptane, tioestre...). Sulfat se najprej s fosforilacijo aktivira v APS (adenozin 5'-

fosfosulfat), nato pa v PAPS (3'-fosfoadenozin-5'-fosfosulfat). Pri tem se porabita dve molekuli ATP. Ti dve molekuli sta zelo reaktivni in lahko direktno tvorita sulfat ali estre. Predvsem pa reducirajo sulfat (SO_4^{2-}) v sulfit (SO_3^{2-}), sledi redukcija sulfita v sulfid (S^{2-}) glavno komponento metabolizma žvepla, predvsem žveplo-vsebujočih aminokislin. Vir žvepla so lahko še: metionin, serin, treonin, nikoli pa cistein. Cistein nastane iz serina in igra glavno vlogo pri regulaciji in prevzemu žvepla s kvasovkami. Prisotnost te aminokisliline v celici zaustavi redukcijo sulfita v žveplo in blokira asimilacijo sulfata pri tvorbi žveplo-vsebujočih aminokislin (Košmerl, 2007a).

2.2.4 Vzoredni metabolni produkti

Ko je mošt inokuliran s kvasovkami vrste *S. cerevisiae*, se tvorba etanola ne začne takoj (Košmerl, 2003). Nekateri pomembni encimi v alkoholni fermentaciji (piruvat dekarboksilaza in alkohol dehidrogenaza) so namreč inhibirani s strani glukoze. Posledično se tvorijo številne druge komponente: glicerol, piruvat, sukcinat in druge organske kisline (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

2.2.5 Glicerol, organske in maščobne kisline

Glicerol daje vinu poln, prijeten in harmoničen okus. Njegova koncentracija se giblje okrog 5-8 g/L in je odvisna od vsebnosti sladkorjev v moštu, temperature fermentacije, seva kvasovk in vsebnosti pantotenske kisline. Substrat za produkcijo glicerola je sladkor. V procesu glikolize je dihidroksiacetonfosfat prekursor za nastanek glicerola. Encim dihidroksiacetonfosfat reduktaza reducira dihidroksiacetonfosfat v glicerolfosfat ob hkratni reoksidaciji NADH molekule v NAD^+ . Nadalje encim glicerolfosfat fosfataza defosforilira glicerolfosfat v glicerol. Poleg regeneracije NAD^+ pri tvorbi alkohola, se ta lahko regenerira tudi pri tvorbi glicerola. SO_2 tvori kompleks z acetaldehidom, kar onemogoča reoksidacijo NADH v NAD^+ . Med fermentacijo nastane od 5 do 11 g/L glicerola. Celico zapusti s pasivno difuzijo (Košmerl, 2003). Tvorba glicerola služi kvasovki tudi pri vzdrževanju osmotskega tlaka. Med fermentacijo pomeni tvorba glicerola vzdrževanje bilance oksidacijsko-redukcijskega ravnotežja. Pri njegovi tvorbi pa se ATP porablja.

Mlečna kislina nastane s presnovo jabolčne kisline, kot produkt delovanja mlečnokislinskih bakterij (jabolčno-mlečnokislinska fermentacija).

Med organskimi kislinami predstavlja jantarna kislina, podobno kot glicerol, enega glavnih sekundarnih produktov fermentacije. V vinu lahko doseže koncentracijo do 1 g/L. Po izvoru nastane iz jabolčne kisline ali pa sladkorja preko piruvične kisline z encimi v sklopu Krebsovega cikla. Pri fermentaciji se 0,3 do 0,5 % sladkorjev pretvori v jantarno kislino. Manj dušika kot ima kvasovka na razpolago, več jantarne kisline tvori in obratno. V razmerah fermentacije mošta (anaerobioza in velika koncentracija sladkorjev) ostaja pot tvorbe sukcinata še vedno stvar deljenih mnenj: nekateri avtorji zagotavljajo normalno (oksidativno) delovanje, vendar zelo upočasnjen cikel trikarboksilnih kislin (Oura, 1977); medtem ko drugi avtorji kažejo domala prekinjen cikel in vpliv reduktivnega delovanja, domnevno zaradi motene aktivnosti piruvat karboksilaze (Košmerl, 2003).

Ocetna kislina se tvori na začetku fermentacije, njena tvorba pa se ustavi, po končani fermentaciji sladkorjev. Večje koncentracije očetna kisline se tvorijo pri pH pod 3,2 in nad

4. Tvorba očetne kisline s kvasovkami vrste *S. cerevisiae* je odvisna od vsebnosti sladkorjev, dušika in vrednosti pH (Košmerl, 2007a).

Prisotne so tudi različne maščobne kisline. Nenasičene maščobne kisline nastanejo pri reakcijah nenasičenja nasičenih maščobnih kislin. Glavne so palmitinska (C 16:0), palmitoleinska (C 16:1), stearinska (C 18:0) in oleinska (C 18:1). Kratkoverižne maščobne kisline pa predstavljajo kapronska, kaprilna in kapronska. Vse maščobne kisline so prekursorji pri tvorbi estrov.

2.3 VINSKE KVASOVKE IN NJHOVA VLOGA MED ALKOHOLNO FERMENTACIJO

2.3.1 Splošne značilnosti vinskih kvasovk

Alkoholna fermentacija je pretvorba grozdnega sladkorja v alkohol in ogljikov dioksid. Medsebojno delovanje najrazličnejših vplivov (sladkorja, alkohola, vrednosti pH, oksidacijsko-redukcijski potencial, žveplovega dioksida) ter številni vzporedni produkti alkoholne fermentacije pa v končni fazi določajo protimikrobne lastnosti mošta in kasneje vina. Za številne mikroorganizme je že začetna količina sladkorja (glukoze in fruktoze) v grozdju nad njihovo optimalno koncentracijo. Neugodne osmotske razmere, združene s kislostjo mošta in majhno koncentracijo vodikovih ionov, omejujejo tako število kot raznolikost mikroorganizmov: določajo katere vrste ali sevi bodo rasli, njihovo hitrost rasti in fermentacijsko sposobnost ter nenazadnje tudi koncentracijo senzorično pomembnih vzporednih produktov. Vpliv etanola je dobro znan, nizek oksidacijsko-redukcijski potencial pa omejuje običajno rast plesni in očetno kislinke bakterije.

Med alkoholno fermentacijo tvorijo mikroorganizmi tudi produkte (npr. očetno kislino, maščobne kisline, toksine, idr.), ki ovirajo ali celo toksično delujejo na ostale seve, vrste ali rodove. Različni tehnološki postopki predelave grozdja, potek in dokončanje alkoholne fermentacije, temperatura med zorenjem in skladiščenjem vina pa omejujejo rast mikroorganizmov v vinu ob določenih drugih fizikalno-kemijskih parametrih (reducirajoči sladkorji, alkohol, prosti in skupni žveplov dioksid) (Košmerl, 2007a).

Vrsta *Saccharomyces cerevisiae* je znana kot vinska kvasovka. Glede na to da je ta vrsta prevladujoča na koncu alkoholne fermentacije, pa je na površini grozdne jagode in moštu prisotna v zelo majhnem številu. Prevladujejo namreč avtohtoni ali endogeni rodovi ne-*Saccharomyces* ne sporogenih kvasovk, zlasti vrste *Kloeckera apiculata*, *Hanseniaspora uvarium* in *Candida stellata* so prisotne v začetnih fazah fermentacije in dosežejo končno koncentracijo celo 10^6 - 10^8 CFU/mL, preden odmrejo.

Končno kakovost vina določajo:

- kakovost grozdja (sorta, okolje vinogradniška tehnologija, zrelost, zdravstveno stanje),
- ekstrakcija grozdnega soka (mehanska ali ročna trgatev, koncentriranje soka, stiskanje celega grozdja ali razpecljanega in zdrozganega, vrsta stiskalnic, temperatura, čas),
- fermentacija (rodovi, vrste in sevi kvasovk, temperatura, pH, žveplov dioksid, vrsta fermentacijske posode, podaljšan čas kontakta z jagodno kožico, stiskanje itd.),

- stekleničenje in zorenje (steklenice ali lesena posoda, vrsta zamaškov, mikrobiološke spremembe).

Selektivni dejavniki za prisotnost mikroorganizmov z ozirom na okolje:

V grozdnem soku:

- po stiskanju oziroma v predfermentativni fazi: dodatek žveplovega dioksida in regulacija temperature,
- izvor mikroorganizmov: grozdje, predelovalne površine, zrak, roke...,
- fizikalno-kemijski parametri: pH, vsebnost sladkorja, kisik.

V vinu:

- alkohol,
- pomanjkanje hranil,
- občutljivost kvasovk na etanol, temperaturo in SO₂.

Osnovne značilnosti alkoholne fermentacije mošta so:

- alkoholna fermentacija poteka z endogeno kvasno populacijo ali dodano startersko kulturo,
- povečanje celične rasti omogoča dokončanje alkoholne fermentacije (celotne pretvorbe sladkorja v alkohol),
- rast celic poteka v začetni fazi alkoholne fermentacije, v kateri se hitro porabi raztopljeni kisik, nastali etanol in CO₂ inhibirata aerobne mikroorganizme (ocetnokislinske bakterije in oksidativne kvasovke),
- v sredini alkoholne fermentacije prevladajo značilno močno fermentativne kvasovke vrste *Saccharomyces cerevisiae*; v idealnih razmerah preostane manj kot 1 g/L reducirajočih sladkorjev.

Dejavniki, ki vplivajo na hitrost rasti kvasovk med alkoholno fermentacijo:

- dodatek starterske kulture,
- temperatura fermentacije,
- žveplanje,
- prisotnost ali uporaba kvasovk z zimocidno (»killer«) aktivnostjo,
- motnost oziroma stopnja bistrosti mošta,
- ostanki zaščitnih snovi,
- vpliv ostalih mikroorganizmov (plesni in bakterije).

2.3.2 Ekološke in metabolne lastnosti vinskih kvasovk

Vinske kvasovke imajo tako pozitivne kot negativne učinke; prikazane so v preglednici 3. Zaradi različnih lastnosti je potrebno njihovo dobro poznavanje. V selekciji kvasovk se navadno poskušajo izogniti njihovim negativnim lastnostim. Na trg neprestano prihajajo izboljšave. Tako poznamo uporabo mešane kulture različnih sevov kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae*, od katerih ima posamezni sev zelo različno razmerje sekundarnih produktov. Tako pridelano vino je vsekakor bistveno bolj kompleksno s stališča hlapnih aromatičnih sestavin; predvsem 3-metil-butilacetata (Košmerl, 2007a). Raziskave so pokazale, da se je fermentacija z inokuliranimi mešanimi kulturami kvasovk v primerjavi s fermentacijo z inokuliranimi posameznimi sevi teh kvasovk, hitreje zaključila, tvorilo se je manj negativnih arom (hlapnih kislin), tako pridelana vina so imela

večjo koncentracijo estrov (predvsem etil izovalerata in heksil acetata) in večjo kompleksnost (King in sod., 2007).

Preglednica 3: Ekološke in metabolne lastnosti vinskih kvasovk (Košmerl, 2007a)

| Pozitivne lastnosti | Negativne lastnosti |
|------------------------------------|-----------------------------------|
| fermentacija pri nizki temperaturi | tvorba žveplovega dioksida |
| minimalna faza prilagajanja | tvorba hlapnih kislin |
| odpornost na žveplov dioksid | tvorba acetaldehida in piruvata |
| poraba sladkorja v celoti | tvorba vodikovega sulfada |
| razgradnja jabolčne kisline | tvorba polifenol oksidaze |
| tvorba glicerola | tvorba prekurzorjev etilkarbamata |
| visoka odpornost na etanol | sposobnost penjenja |

Kvasovke vplivajo na aromo vina predvsem s tvorbo različnih količin hlapnih snovi (Košmerl, 2007a).

2.4 STARTERSKE KULTURE VINSKIH KVASOVK

Spontana alkoholna fermentacija je okarakterizirana s časovnim zaporedjem prisotnosti različnih vrst in sevov kvasovk. V optimalnih razmerah je rezultat mešane avtohtone populacije lahko zelo kompleksno vino z izrazito sadnim značajem, polnostjo in harmoničnostjo v okusu. Ker se v večini primerov pojavljajo problemi med spontano alkoholno fermentacijo (povečana koncentracija oetne kisline, etilnih estrov oetne kisline, priokusi, prekinitev in/ali zaustavitev fermentacije), se zato priporoča dodatek čiste kulture kvasovk. Nasprotno je dejstvo, da je najznačilnejša tehnološka prednost s stališča alkoholne fermentacije mošta tržna dostopnost selekcioniranih kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae* (Košmerl, 2007a). V preglednici 4 so prikazani najpomembnejši cilji selekcije vinskih kvasovk.

Preglednica 4: Osnovni selekcijski kriteriji vinskih kvasovk in cilji (Košmerl, 2007a)

| Selekcijski kriteriji | Cilji selekcije |
|---------------------------|--|
| fermentacijska sposobnost | majhna tvorba sulfida in sulfid vezujočih substance |
| osmotoleranca | čim manjša tvorba hlapnih kislin in H ₂ S |
| odpornost na alkohol | majhna sposobnost penjenja |
| odpornost na sulfit | sposobnost tvorbe filma |

Preparati suhih aktivnih kvasovk vsebujejo veliko število živih celic od 1,2 do $2,7 \cdot 10^{10}$ CFU/g, medtem ko je njihova preživelost med 40-64 %. Ni zamerljivo dejstvo, da so prisotne tudi mlečnokislinske bakterije od $9 \cdot 10^3$ do $7,6 \cdot 10^6$ CFU/g in kvasovke rodov ne-*Saccharomyces* do $0,1 \cdot 10^6$ CFU/g. Po resoluciji OIV (OENO 329/2009) mora starterska kultura kvasovk (ADY) vrste *Saccharomyces cerevisiae* vsebovati živih kvasnih celic najmanj 10^{10} CFU/g. Vsebnost drugih mikroorganizmov je naslednja: drugih (nedeklariranih vrst kvasovk) manj kot 10^5 CFU/g, plesni največ do 10^4 CFU/g, mlečnokislinskih bakterij največ do 10^5 CFU/g in oetnokislinskih bakterij največ do 10^4 CFU/g. Med rehidracijo se preživelost kvasovk ne spremeni, zmanjša pa se število ne-*Saccharomyces* in bakterij; zlasti te nimajo nobene možnosti preživetja med fermentacijo in običajno odmrejo po štirih dneh, medtem ko kvasovke odmrejo po šestih dneh (Košmerl, 2007a).

Kvasovke, ki se jih uporablja za inokulacijo mošta in vina morajo biti v dehidrirani obliki, le-te morajo biti izolirane iz grozdja, mošta ali vina. Pridobimo pa jih lahko tudi s pomočjo hibridizacije istih kvasovk. Take kvasovke morajo imeti certifikat genske stabilnosti. Stopnjo inokulacije lahko posameznik določi sam (Jurana, 2008).

Označevanje suhih aktivnih kvasovk:

- ime kvasovke,
- način izolacije,
- navodila za uporabo, ki ga priporoča proizvajalec,
- število celic na gram praška, pri temperaturi shranjevanja do 15 °C,
- serijska številka, datum veljavnosti in pogoji shranjevanja,
- če so kvasovke pridobljene s pomočjo genetike, to navedeno na etiketi,
- uporaba dodatkov, ki smo jih uporabili med sušenjem.

Suhe aktivne kvasovke so običajno okrogle oblike oziroma v obliki zrn, pridobljenih s pomočjo sušenja. Njihovo kakovost določimo z metodami, ki jih določa mednarodni enološki kodeks (O.I.V.):

- stopnja vlažnosti,
- določanje preživelosti kvasovk,
- določanje drugih kvasovk, ki niso navedene na etiketi,
- koncentracija mlečno- in očetnokislinskih bakterij,
- koncentracija *Escherichia coli*, streptokokov, salmonel in koliformnih bakterij,
- koncentracija plesni,
- vsebnost živega srebra, svinca, arzena in kadmija.

2.4.1 Osnovne lastnosti starterskih kultur vinskih kvasovk

Veliko vinarjev uporablja za fermentacijo mošta komercialne starterske kulture, ki so selekcionirane glede na štiri osnovne kriterije: fermentacijske lastnosti, senzorične značilnosti, tehnološke in metabolne lastnosti (preglednica 5). V okviru teh kriterijev se v praksi, odvisno od fizikalno-kemijske sestave mošta, srečamo vsaj z enim od naštetih fenomenov:

- nadzor pretvorbe sladkorjev v etanol in tvorba večjih količin sekundarnih metabolitov,
- ovirana asimilacija dušikovih spojin ali njihovo pomanjkanje,
- slabša odpornost na etanol,
- slabša odpornost na protimikrobne komponente (poleg očetne kisline in maščobnih kislin): »killer« toksin, žveplov dioksid, ostanki sredstev za zaščito vinske trte (zlasti baker),
- tvorba pene v začetni fazi fermentacije.

Preglednica 5: Zelene značilnosti starterskih kultur vinskih kvasovk (Košmerl, 2007a)

| | |
|---|---|
| Fermentacijske lastnosti | hiter začetek fermentacije |
| | visoka učinkovitost in osmotoleranca |
| | visoka toleranca na etanol |
| | nizek temperaturni optimum |
| | zmerne produkcije biomase |
| Aromatične značilnosti | majhna tvorba sulfidov/DMS/tiolov |
| | majhna tvorba hlapnih kislin in višjih alkoholov |
| | spostitev prekursorjev aromatičnih snovi |
| | velika tvorba glicerola |
| | hidrolitska aktivnost |
| | povečana avtoliza |
| Tehnološke lastnosti | prilagojena esterazna aktivnost |
| | visoka genetska stabilnost in toleranca na sulfit |
| | nizka sposobnost vezave sulfita |
| | majhna tvorba pene |
| | flokulacijske lastnosti |
| | kompaktnost usedline |
| | odpornost na sušenje |
| | zimocidna (»killer«) aktivnost |
| | genetska označitev |
| | proteolitična aktivnost |
| majhna potreba po dušiku | |
| Metabolne lastnosti (zdravstveno stališče) | majhna tvorba sulfita in biogenih aminov |
| | nizek potencial tvorbe etilkarbamata |

Alkoholna fermentacija je dinamičen proces, v katerem se dogajajo številne spremembe zaradi zunanjih fizikalnih dejavnikov in biološke aktivnosti fermentirajočih organizmov. Med spreminjanjem zunanjega okolja morajo organizmi s številnimi mikroorganizmi vzdrževati intracelularne fizikalno-kemijske parametre znotraj določenih meja, z namenom doseči optimalne razmere za svojo metabolno aktivnost in ohranjeno integriteto celic. V nasprotnem primeru se to odraža v upočasnjeni rasti ali smrti celic.

Za zagotovitev celotne pretvorbe sladkorja, brez vzporedne tvorbe neželenih aromatičnih spojin, moramo zagotoviti rast in prevlado kvasovk vrste *Saccharomyces cerevisiae*:

- zagotovitev anaerobnih razmer,
- uporaba žveplovega dioksida v koncentraciji 30-50 mg/L; včasih tudi pasterizacija ali po končani alkoholni fermentaciji,
- fermentacijska temperatura med 16-20 °C; pod 14 °C je rast kvasovk rodov ne-*Saccharomyces* hitrejša, zlasti kvasovk rodu *Kloeckera*, ki v primeru prevlade tvorijo velike količine očetne kisline in etilacetata,
- dodatek starterske kulture, katerih gostota naj bo 1-5·10⁶ CFU/mL,
- pretok, bistrenje in uporaba žveplovega dioksida po končani alkoholni fermentaciji,
- sterilna filtracija, protimikrobna in antioksidativna sredstva pred stekleničenjem (Košmerl, 2007a).

2.4.2 Zahteve za industrijsko produkcijo starterskih kultur

Osnovne zahteve, ki jih morajo izpolnjevati industrijske starterske kulture, so:

- dokončanje fermentacije (toleranca na alkohol),
- toleranca na visoke sladkorne stopnje mošta,
- toleranca na visoko in nizko temperaturo,

- toleranca na žveplov dioksid,
- toleranca na visok tlak (pri penečih vinih),
- tvorba majhnih količin očetne kisline, acetaldehida, žveplovega dioksida, merkaptanov, diacetila, H₂S in višjih alkoholov,
- majhno penjenje,
- flokulativnost po končani alkoholni fermentaciji (izboljšanje bistrenja),
- sposobnost sušenja.

Dodatne zahteve industrijskih starterskih kultur:

- tvorba zelenih sortnih arom,
- razgradnja jabolčne kisline,
- tvorba glicerola,
- β-glukozidazna aktivnost,
- zimocidna ali »killer« aktivnost,
- majhno izločanje uree,
- aglomeracija,
- tvorba estrov,
- proteazna aktivnost,
- tvorba inhibitornih snovi za druge kvarljive mikroorganizme.

Sestava rodov ali vrste kvasovk v starterski kulturi

Še ne dolgo nazaj je starterska kultura vsebovala en sam sev vrste *Saccharomyces cerevisiae*, danes pa jo sestavlja kombinacija različnih sevov iste vrste *Saccharomyces cerevisiae* ali kombinacija vrst *Saccharomyces cerevisiae* in rodov ne-*Saccharomyces*.

Priprava zdrave starterske kulture

Za pripravo zdrave starterske kulture moramo upoštevati navodila proizvajalca za rehidracijo kvasovk. V inokulumu mora biti približno 2-5 milijonov aktivnih kvasnih celic na 1 mL vzorca (to odgovarja 1-3 vol.% inokuluma). Vse pa je odvisno od mošta, kjer je potreben dodatek suhih kvasovk 15-40 g/hL mošta. V primeru, da je grozdje slabšega zdravstvenega stanja (gniloba), potrebujemo večji inokulum med 20-40 g/hL; v belih moštih iz zdravega grozdja in opravljenem bistrenju je običajni dodatek inokuluma med 20-25 g/hL.

Faza rehidracije

Temperatura neklorirane vode, v kateri pripravimo suhe selekcionirane kvasovke, mora biti med 35 in 40 °C, v razmerju 1:10. V prvi fazi rehidracije v vodo ne dodajamo ne sladkorja, ne mošta, ker bi osmotski stres povzročil le manjšo živost kvasne populacije. Rahlo premešamo in pustimo nabrekati 15-30 minut. Po tem času je kvasovka primerna za uporabo, tako da inokulum najprej dodamo v manjšo količino mošta in šele nato v končno količino mošta ter tako zmanjšamo temperaturni šok (Košmerl, 2007a).

2.4.3 Inokulacija starterskih kultur

Za preprečitev temperaturnega šoka moramo paziti, da ni prevelikih temperaturnih razlik med moštom in rehidriranimi kvasovkami (Δ temp. <10 °C; idealno med 5-7 °C). Pri tem moramo zagotoviti počasno zniževanje temperature; približno 5 °C na uro, z dodajanjem manjših količin hladnejšega mošta (Jurana, 2008).

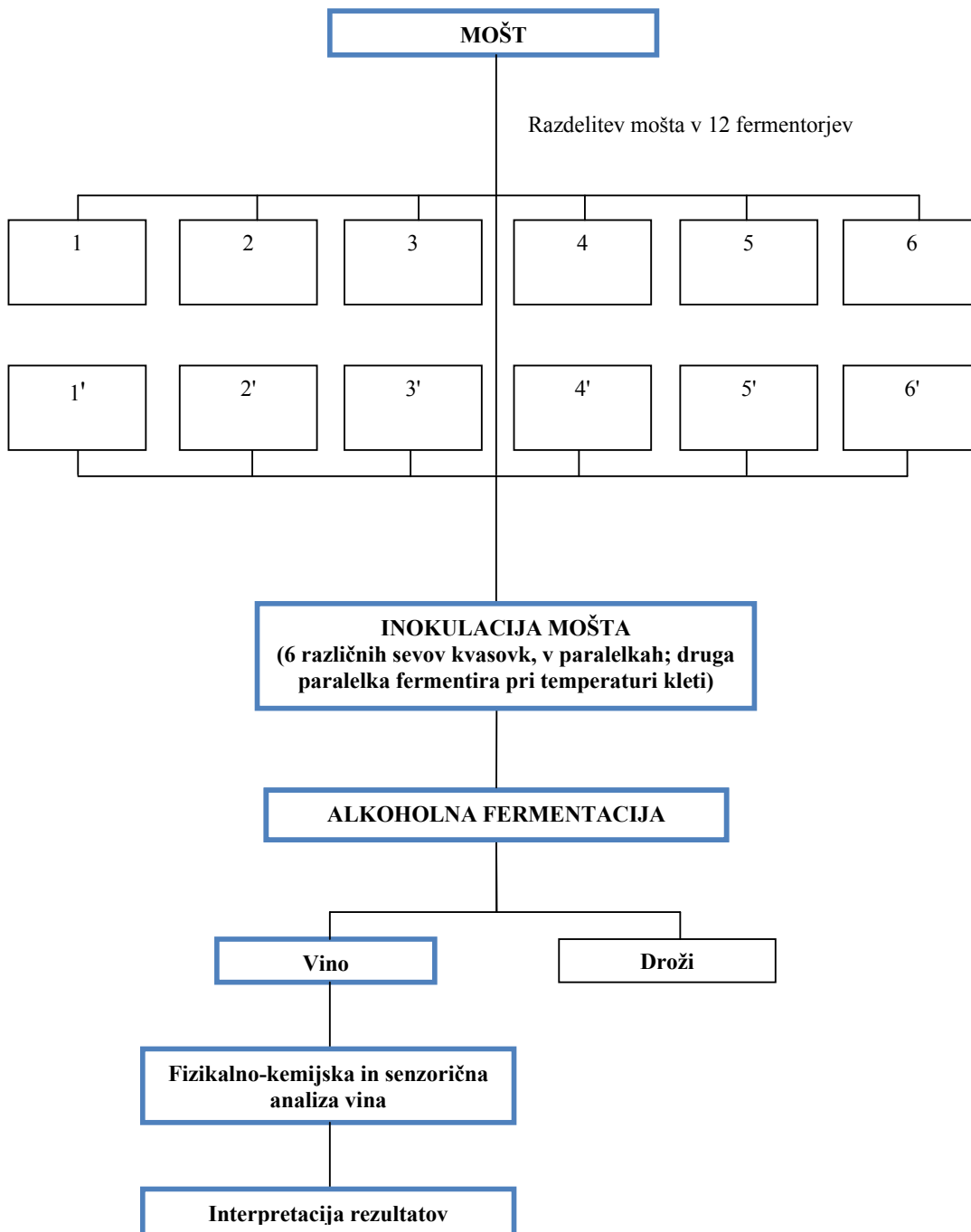
Kvasovkam lahko oziroma je priporočljivo zagotoviti dodatek kompleksnega hranila, že v rehidracijski vodi. Do pomanjkanja kisika lahko pride že na začetku, zato je razmnoževanje kvasovk omejeno le na 4 do 5 generacij. Zavedati se je treba, da tudi CO₂, dušik in askorbinska kislina zmanjšajo vsebnost molekularnega kisika, zato pomanjkanje kisika preprečimo z nepretiranim žveplanjem. Kisika lahko začne primanjkovati tudi proti koncu eksponentne faze rasti kvasovk, v stacionarni fazi pa lahko pride do zmanjšanja sinteze lipidov in sterolov. Zato je potrebno aerobno namnoževanje kvasovk, ki vodi v značilno večji delež nenasičenih maščobnih kislin in do trikrat večjo količino sterolov, kar pozitivno prispeva k večji preživelosti in fermentacijski aktivnosti. Pri uporabi žveplovega dioksida (<50 mg/L) v predfermentativni fazi je inaktiviran tiamin, zato je potrebna večja količina tega vitamina (Košmerl, 2007a).

Dodatne zahteve oziroma priporočila (Košmerl, 2007a):

- mošt s pH pod 3,1 potrebuje večji inokulum kvasovk,
- predbistrenje mošta; do največ 0,5 % suspendiranih delcev,
- mešanje inokuliranega, fermentirajočega mošta, predvsem v velikih tankih, zaradi možnosti prezgodnjega odmrtja ali avtolize kvasovk na dnu,
- toksičnost etanola: zaradi poškodb integritete celične membrane je najprej upočasnjena, nato prekinjen transport dušikovih spojin in sladkorja v celico. To je združeno s številnimi dejavniki: pH, visoka temperatura, očetna kislina, kratkoveržne maščobne kisline, pomanjkanje dušikovih spojin, sterolov, vitaminov,
- toksičnost CO₂ nad 2·10⁵ Pa (z mešanjem preprečimo prenasičenje),
- prisotnost divjih kvasovk in bakterij, okuženo grozdje, slaba higiena, predolgo bistenje in kasnejša inokulacija vodita k zmanjševanju hranil in potencialni tvorbi toksinov. Zato je potreben dodatek večjega inokuluma za prevlado kvasovk, kot tudi dodatek hranil,
- očetnokislinske bakterije tvorijo očetno kislino, običajno več kot 0,8 g/L, kar je lahko vzrok za zaustavitev alkoholne fermentacije,
- pri nizkih temperaturah povečamo inokulum, oziroma ga zmanjšamo pri nekontroliranih višjih temperaturah; bolje je izbrati sev počasno fermentirajočih kvasovk,
- prevelik ostanek fruktoze, lahko upočasni alkoholno fermentacijo,
- prisotnost pesticidov vpliva na alkoholno fermentacijo ob tvorbi stresnih metabolitov; na zmanjšanje kontaktnih pesticidov vpliva dodatek bentonita v fazi bistenja belih moštov; zlasti pozna uporaba bakrenih preparatov tik pred trgatvijo, značilno vpliva na tvorbo vodikovega sulfita (H₂S) in merkaptanov,
- dodatek celičnih sten (0,2 g/hL), stimulira fermentacijo in pospeši sproščanje CO₂, ta vpliv je v povezavi z dodatkom nasičenih maščobnih kislin (C₁₆-C₁₈), kot nadomestilo za kisik, ter preprečevanju pomanjkanja hranil.

3 MATERIALI IN METODE DE LA

3.1 ZASNOVA POSKUSA



Slika 2: Shematski prikaz poteka poskusa

3.2 MATERIALI

3.2.1 Mošt

V poskusu smo uporabili bister mošt bele vinske sorte sauvignon, letnik 2010, iz vinorodne dežele Podravje, vinorodnega okoliša Štajerska Slovenija. Fizikalno-kemijske analize smo opravili v moštu in pridelanih mladih vinih po zaključeni alkoholni fermentaciji, ko vino še ni bilo pretočeno. Potek poskusa je prikazan na sliki 2.

3.2.2 Kvasovke

V poskusu smo za inokulacijo mošta uporabili šest suhih selekcioniranih kvasovk za bela vina:

- VIN 7 + QA 23,
- Level 2 (*Torulaspota* + *Saccharomyces cerevisiae*),
- Exotics SPH,
- mutant ECA 5,
- Alchemy II,
- VL3.

VIN 7; naravni hibrid, selekcioniran na inštitutu ARC, Nietvoorbij, Stellenbosch, Južnoafriška republika (Jurana, 2008).

- idealen za predelavo belih aromatičnih vin, še posebej sauvignona in malvazije,
- zelo močno vre, tudi pri nizkih temperaturah, ne potrebuje hrane,
- možnost nastajanja hlapnih kislin, ki se na organoleptiki ne poznajo.

LALVIN QA 23; selekcioniran na inštitutu UTAD, Portugalska (Jurana, 2008).

- ena najbolj popularnih kvasovk za bela vina,
- daje izredno sadna, odprta sveža vina,
- zelo zanesljiva, ni zahtevna pri hrani, lahko vre pri nizkih temperaturah, odporna na alkohol do 16 vol.%,
- za vse bele sorte grozdja.

Level 2 (*Torulaspota delbrueckii* + *Saccharomyces cerevisiae*); selekcionirana v Lallemandovih raziskovalnih ustanovah (Fleet, 2008).

- kvasovki, ki jih uporabljamo v razmerju 20:1,
- skupaj tvorita manj acetaldehida in hlapnih kislin, kot bi jih sicer kvasovka *Saccharomyces cerevisiae*,
- zelo kompleksna aromatika vina, odporna na alkohol do 14 vol.%,
- za bela vina.

Exotics SPH; naravni hibrid, selekcioniran na inštitutu za vinsko biotehnologijo, Stellenbosch University v Južni Afriki (Anchor wine yeast, 2010).

- je hibrid med *Saccharomyces cerevisiae* in *Saccharomyces paradoxus*,
- ima dobre aromatične lastnosti; vina imajo eksotično aromo in okus,
- odličen za pridelavo chenin blanc, chardonnay in viognier,
- »killer«: pozitivna kvasovka.

Mutant ECA5; vinska kvasovka, ki tržno še ni dostopna (Košmerl, 2010).

- kvasovka še v preizkušnji,
- tvori več izoamil acetata,
- vino ima vonj po prezreli banani.

ALCHEMY II; mešanica vinske kvasovke, razvita na inštitutu AWRI (Scott laboratories, 2006).

- vsebuje tudi naravni hibrid VIN 7,
- primeren za pridelavo aromatičnih vin, tvori zelo malo SO₂,
- sprošča hlapne triole (vonj eksotičnega sadja),
- priporoča se hladna fermentacija v cisterni, predvsem za sauvignon in druga bela vina, ki potrebujejo kompleksen profil.

VL3; selekcioniran v sodelovanju z inštitutom SARCO in enološko univerzo v Bordeaux-u v Franciji (Laffort, 2009).

- za povečanje sortne značilnosti in arome vina sauvignon,
- primerna za staranje na drožeh,
- majhna tvorba hlapnih kislin in žveplovih spojin,
- odporna na alkohol do 14 vol.%.

Preglednica 6 prikazuje oznake vzorcev, v katere smo inokulirali posamezne starterske kulture kvasovk oziroma kombinacijo le-teh, količino njihovega dodatka in fermentacijsko temperaturo. Oznake vzorcev 1'-6' se razlikujejo le po nekontrolirani višji fermentacijski temperaturi, ki je bila kletna temperatura (18,5-19 °C).

Preglednica 6: Oznaka vzorcev, komercialno ime kvasovk, količina dodatka in fermentacijska temperatura

| Oznaka vzorca | Komercialno ime starterske kulture | Količina dodatka (g/hL) | Fermentacijska temperatura (°C) |
|---------------|------------------------------------|-------------------------|---------------------------------|
| 1 | VIN 7 + LALVIN QA 23 | 15 + 15 | 13 |
| 2 | Level 2 | 25 | 17 |
| 3 | Exotics SPH | 30 | 17 |
| 4 | mutant ECA 5 | 30 | 17 |
| 5 | ALCHEMY II | 30 | 13 |
| 6 | VL3 | 20 | 16 |
| 1' | VIN 7 + LALVIN QA 23 | 15 + 15 | 18,5-19 |
| 2' | Level 2 | 25 | 18,5-19 |
| 3' | Exotics SPH | 30 | 18,5-19 |
| 4' | mutant ECA 5 | 30 | 18,5-19 |
| 5' | ALCHEMY II | 30 | 18,5-19 |
| 6' | VL3 | 20 | 18,5-19 |

Opomba: dodatek drugega seva je bil po petih dneh alkoholne fermentacije

3.2.3 Rastopine in reagenti

Pri našem delu smo uporabljali reagente oziroma rastopine, katere smo pripravili z deionizirano vodo:

- pufru za umerjanje pH 4,00; 7,02 (komercialno dostopna),
- nasičena rastopina kalijevega hidrogentetrata,
- 0,1 M rastopina NaOH,
- 12 % rastopina CaO,

- 20 % raztopina protipenilca,
- glukoza,
- bakrov sulfat (S1),
- kalij-natrijev tartrat (S2),
- kalijev jodid (S3),
- 16 % raztopina žveplove(IV) kisline (S4),
- škrobovica (S5),
- natrijev tiosulfat (S6)
- 0,5 M žveplova(VI) kislina
- izhodna raztopina joda,
- 0,01 M raztopina joda,
- 1,0 M raztopina NaOH,
- natrijev hidrogenkarbonat,
- 1 % alkoholna raztopina fenolftaleina,
- 50 % raztopina vinske kisline,
- osnovna raztopina L-treonina,
- acetatni pufer,
- barvni reagent,
- raztopina za razredčevanje,
- galna kislina,
- Folin-Ciocalteujev reagent (komercialno dostopen),
- 20 % raztopina natrijevega karbonata.

3.2.4 Oprema in aparature

Pri delu smo uporabili standardno laboratorijsko opremo in pribor. Poleg tega smo uporabili še naslednjo opremo:

- pH meter s kombinirano stekleno elektrodo (Mettler Toledo DGI 113-SC),
- magnetno mešalo,
- destilacijsko napravo (D.E.E. Gibertini),
- denzitometer (Mettler Toledo DE45 Density Meter),
- 300 W električni grelec,
- generator pare (VADE, Gibertini),
- UV-VIS spektrofotometer,
- vodno kopel (HETO),
- tehtnico Sartorius-analytic,
- spektrofotometer,
- turbidometer (HACH 2100 AN),
- HPLC aparat (tekočinski kromatograf visoke ločljivosti),
- SPME in GC-MS aparat (igla za mikroekstrakcijo na trdno fazo in plinski kromatograf z masno spektrometričnim detektorjem).

Fizikalno-kemijske analize smo opravili v laboratoriju za vinarstvo na Katedri za tehnologije, prehrano in vino, Oddelek za živilstvo, Biotehniške fakultete v Ljubljani. Vse analize smo opravili v dveh ponovitvah, vino pa smo pred vsako analizo prefiltrirali skozi grob filter papir s porami velikosti 125 μm .

3.2.5 Nastavitve fermentacijskega poskusa

Mošt smo razdelili v 12 fermentorjev iz nerjavnega jekla (po 35 L mošta v vsakega) in jim dodali starterske kulture vinskih kvasovk. Pri tem smo upoštevali navodila proizvajalca glede priporočila za posamezne kvasovke. Na ta način smo vsak vzorec pripravili v paralelkah, ki smo ju označili s številko (npr. 1 in 1'). Pri tem moramo upoštevati, da je prva paralelka imela kontrolirano temperaturo fermentacije, druga paralelka pa je bila izpostavljena kletni temperaturi. Med samo alkoholno fermentacijo smo spremljali koncentracijo reducirajočih sladkorjev. Po končani fermentaciji pa smo v vseh vzorcih opravili še preostale fizikalno-kemijske analize.

3.3 KEMIJSKE ANALIZE MOŠTA IN VINA

3.3.1 Določanje pH vina

Potenciometrična metoda (Košmerl in Kač, 2007).

Merimo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v vzorec mošta ali vina. Ena elektroda (referenčna) ima stalen (znan) potencial, druga, steklena elektroda (merilna) pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Točnost meritev pH metra Mettler Toledo DL50 Graphix mora biti najmanj $\pm 0,05$ pH enote. Za merjenje smo uporabili kombinirano stekleno elektrodo proizvajalca Mettler Toledo, model DGI 113-SC.

3.3.2 Določanje pufrne kapacitete v vinu

Potenciometrična metoda (Košmerl in Kač, 2007).

Pufurna kapaciteta je definirana kot množina (število molov) H_3O^+ ali OH^- ionov, ki jih moramo dodati 1 L vzorca, da se njegov pH spremeni za eno enoto. Njena številčna vrednost je obratno sorazmerna naklonu titracijske krivulje v območju pH mošta ali vina. Podatek je pomemben za razumevanje sprememb pH.

Merili smo razliko v potencialu med dvema elektrodama, ki sta potopljeni direktno v vzorec vina. Ena elektroda (referenčna) ima stalen (znan) potencial, druga, steklena elektroda (merilna) pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Uporabljamo pH meter Mettler Toledo DL50 Graphix s skalo v pH enotah. Za merjenje smo uporabili kalibrirano stekleno elektrodo (merilna in referenčna elektroda v enem kosu). Zaradi majhnih vrednostih jo izražamo v mmol/L/pH.

Pri dodajanju baze oziroma kisline poteka reakcija:



3.3.3 Določanje skupnih (titrabilnih) kislin v vinu

Potenciometrična metoda (Košmerl in Kač, 2007).

Pri kislinsko-bazni potenciometrični titraciji merimo razliko v potencialu med elektrodama, ki sta potopljeni direktno v vzorec mošta ali vina. Ena elektroda (referenčna)

ima stalen (znan) potencial, druga, steklena elektroda (merilna) pa ima potencial, ki je funkcija aktivnosti H_3O^+ ionov v raztopini. Uporabljamo pH meter s skalo v pH enotah. Za merjenje smo uporabili kalibrirano stekleno elektrodo (merilna in referenčna elektroda v enem kosu).

Na avtomatskem titratorju je potekala titracija z 0,09916 M oziroma z 0,09978 M raztopino NaOH, do končne točke titracije pH 7,0 in pH 8,2. Pri dodajanju baze je potekala reakcija:



Masno koncentracijo skupnih (titrabilnih) kislin (g vinske kisline/L) izračunamo po naslednjih formulah:

$$\text{TK}_1(\text{g/L}) = \frac{a_1(\text{mL}) \cdot c \cdot M(\text{g/mol})}{v(\text{mL}) \cdot n} \quad \dots(3)$$

oziroma

$$\text{TK}_2(\text{g/L}) = \frac{a_3(\text{mL}) \cdot c \cdot M(\text{g/mol})}{v(\text{mL}) \cdot n} \quad \dots(4)$$

$$a_3 = a_1 + a_2 \quad \dots(5)$$

Koncentracijo kislodelujočih pa smo izračunali po naslednji formuli:

$$\text{Kislodelujoče soli (mg/L): } (\text{TK}_2(\text{g/L}) - \text{TK}_1(\text{g/L})) \cdot 1000 \quad \dots(6)$$

Legenda: TK - koncentracija titrabilnih kislin; izraženih kot vinska kislina (g/L)

a_1 - volumen porabljene baze pri titraciji do pH 7,0 (mL)

a_2 - volumen porabljene baze od pH 7,0 do pH 8,2 (mL)

a_3 - volumen porabljene baze pri titraciji do pH 8,2 (mL)

c - koncentracija NaOH (0,09916 mol/L oz. 0,09978 mol/L)

M - molska masa vinske kisline (150,09 g/mol)

V - volumen vzorca (25 mL)

n - molsko razmerje kemijske reakcije med NaOH in vinsko kislino ($n = 2$)

3.3.4 Določanje relativne gostote, ekstrakta in alkohola v vinu

Termostatiranemu vzorcu vina (20 °C) izmerimo relativno gostoto z denzitometrom znamke METTLER TOLEDO DE45. Nato točno določen volumen (100 mL) ponovno termostatiranega vzorca predestiliramo z destilacijsko napravo v 100 mL merilno bučko. Po destilaciji vzorca dobljeni alkoholni destilat termostatiramo in izmerimo njegovo relativno gostoto z denzitometrom. Poleg relativne gostote odčitamo tudi koncentracijo (vol.%) alkohola.

Izračun relativne gostote in vsebnost skupnega ekstrakta

Po AOAC relativno gostoto skupnega ekstrakta vina (d_{SE}) izračunamo s pomočjo Tabariéjevega obrazca:

$$- d_{SE} = d_V - d_A + 1,0000 \quad \dots(7)$$

kjer pomeni d_V relativno gostoto vzorca vina in d_A relativno gostoto alkoholnega destilata.

Na podlagi znane relativne gostote d_{SE} iz tabele odčitamo masno koncentracijo skupnega ekstrakta v vinu (g skupnega ekstrakta/L vina). Rezultat izrazimo na eno decimalno mesto.

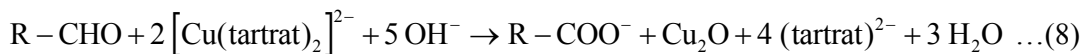
3.3.5 Določanje reducirajočih sladkorjev v vinu

Titribilna metoda po Rebeleinu (Košmerl in Kač, 2007).

Številni reagenti (Luffov, Soxhletov, Fehlingov) kvantitativno oksidirajo reducirajoče sladkorje v karboksilne kisline. Oksidacija je odvisna od uporabljenega reagenta in od pogojev (razmer) oksidacije. S segrevanjem do vrenja poteče v reakcijski zmesi oksidacija reducirajočih sladkorjev v kisline, dvovalentni bakrovi ioni iz reakcijske zmesi pa se reducirajo do bakrovega(I) oksida. Iz raztopine se izloči oborina netopnega bakrovega(I) oksida (Cu_2O). Preostali Cu^{2+} ioni se v raztopini kalijevega jodida v kislem (dodatek žveplove(VI) kisline) reducirajo, nastali jod (I_2) pa titrimetrično določimo z raztopino natrijevega tiosulfata ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) s škrobovico kot indikatorjem. Koncentracijo reducirajočih sladkorjev (g/L) določimo kot direktni odčitek porabe z birete ob upoštevanju slepega vzorca (to vrednost odštejemo od rezultata).

Reakcije pri določanju reducirajočih sladkorjev po Rebeleinu

- oksidacija reducirajočih sladkorjev in redukcija Fehlingove raztopine (raztopina bakrovega sulfata in K-Na tartrata) do bakrovega(I) oksida pri segrevanju do vrenja:



- redukcija presežnega bakrovega sulfata (Cu^{2+} ionov) s kalijevim jodidom (I^- ioni) v kislem:



- titracija nastalega joda z raztopino natrijevega tiosulfata:



3.3.6 Določanje žveplovega dioksida v vinu

Titracijska metoda po Ripperju (Košmerl in Kač, 2007).

Določanje prostega in skupnega žveplovega dioksida (SO_2) po Ripperjevi metodi temelji na oksidacijsko-redukcijski reakciji z raztopino joda (I_2). Za določitev koncentracije prostega SO_2 vzorec vina najprej nakisamo z dodatkom žveplove(VI) kisline, dodamo indikator (škrobovico) in titriramo s standardizirano raztopino joda. Jod oksidira žveplove(IV) kislino v žveplove(VI) kislino, v končni točki titracije pa prebitna količina joda obarva raztopino modro.

Za določitev koncentracije skupnega SO₂ vzorcu vina najprej dodamo 1 M raztopino NaOH, da dosežemo hidrolizo vezanega SO₂, tj. acetaldehid- α -hidroksisulfonata in drugih bisulfidnih kompleksov. Nato sledi dodatek ostalih reagentov in jodometrična titracija, kot pri določanju prostega SO₂.

Reakcija pri določanju žveplovega dioksida v vinu po Ripperju

- oksidacija žveplove(IV) kisline v žveplove(VI) kislino (oz. SO₂ v SO₃):



3.3.7 Določanje hlapnih kislin v vinu

Destilacijska metoda (Cashstream distillation, Markham steam distillation) (Košmerl in Kač, 2007).

Po destilaciji vzorca z vodno paro sledi titracija destilata s standardizirano vodno raztopino natrijevega hidroksida. Rezultat izrazimo kot očetno kislino (g/L):

$$\text{HK} = a \cdot c \cdot M \text{ (g/mol)} \cdot \left(\frac{50}{1000} \right) \quad \dots(12)$$

Legenda: HK - koncentracija hlapnih kislin; izraženih kot očetna kislina (g/L)
 a - poraba titranta (mL)
 c - koncentracija NaOH (0,099700 mol/L)
 M - molska masa očetne kisline (60,05 g/mol)
 50 - razredčitveni faktor

3.3.8 Določanje prostega aminokislinskega dušika (FAN) v vinu

Aminokislinska sestava mošta je ena glavnih kakovostnih parametrov kemijske sestave mošta. Aminokislina so med fermentacijo pomemben vir dušika za kvasovke, ki jih izločajo za izgradnjo lastnih struktur in funkcijskih beljakovin. Tako posledično vplivajo na rast kvasne biomase, normalen potek fermentacije in sodelujejo pri tvorbi aromatičnih snovi vina. Metoda za določanje je spektrofotometrična, prirejena po Nicoliju in sodelavcih (Košmerl in Kač, 2007).

Podatki o začetni koncentraciji dušikovih spojin so potrebni predvsem zato, da lahko na podlagi znanega metabolizma kvasovk napovemo potrebo po dodajanju dušikovih spojin v mošt. Znano je, da lahko njihovo pomanjkanje povzroči počasno ali nepopolno fermentacijo.

Koncentracijo prostega aminokislinskega dušika v vzorcu določimo spektrofotometrično z merjenjem absorpcijskega spektra v območju valovnih dolžin od 450 do 700 nm. Rezultat izrazimo v mg N/L.

3.3.9 Določanje skupnih fenolnih spojin v vinu

V grobem ločimo dve skupini fenolnih spojin v vinu: relativno enostavne, ki prihajajo iz grozdja, in kompleksne fenolne spojine (tanini), ki se ekstrahirajo iz lesene posode med zorenjem. Fenolne spojine pomembno prispevajo k barvi in stabilnosti vina, v večjih koncentracijah pa tudi k trpkosti (astringentnosti) in grenkemu okusu. Fenolne spojine določamo s spektrofotometrično metodo po Singletonu in Rossiju (Košmerl in Kač, 2007).

Absorbanco obarvane reakcijske zmesi, ki nastane po oksidaciji fenolnih spojin s Folin-Ciocalteuevim reagentom v alkalni raztopini, izmerimo po dveh urah pri valovni dolžini 765 nm. Rezultate podamo v mg galne kisline/L.

3.3.10 Določanje intenzitete barve vina

Barvo belih vin merimo (brez razredčitve) s spektrofotometrom; merimo absorbanco vzorca pri valovni dolžini 420 nm ali v širšem spektru svetlobe od 400 do 440 nm proti slepemu vzorcu (voda).

$$\text{- intenziteta barve: } I = A_{420} \quad \dots(13)$$

3.3.11 Določanje motnosti v vinu

Motnost smo določali turbidimetrično s turbidimetrom znamke HACH 2100 AN. Motnost je posledica suspendiranih trdnih delcev v vzorcu vina. Običajno gre za znak določene tehnologije npr. da vina ne čistimo, stabiliziramo ali filtriramo. Pri tem lahko pride tudi do kemijskih pomanjkljivosti, kot so nastanek koloidov, kristalov in kovinskih ionov. Motnost se izraža v nefelometričnih turbidimetričnih enotah (NTU) (Košmerl in Wondra, 2007).

3.3.12 Določanje vsebnosti sladkorjev in glicerola v vinu

Vsebnost posameznih sladkorjev (glukoze in fruktoze) ter poliola glicerola, smo določali s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC). Kromatografski pogoji so bili naslednji:

- razplinjevalnik: Jour Research, X-Act,
- črpalka: Knauer, Maxi star K-1000,
- kolona: Bio-Rad, Aminex, HPX-87H, 300 x 7,8 mm, 9 μm,
- mobilna faza: 0,0025 M H₂SO₄,
- pretok mobilne faze: 0,5 mL/min,
- temperatura: 25 °C,
- volumen injiciranja: 20 μL,
- detektor: RI detektor, K-2301, Knauer,
- avtomatski podajalnik vzorcev: Spark Holland, Marathon-XT,
- zapis signala: programska oprema Eurochrom 2000.

Odvzete vzorce smo prefiltrirali skozi 0,45 μm filter in do izvajanja analiz hranili pri sobni temperaturi (20 °C) v plastičnih 10 mL epruveh. Vzorce mošta in vin smo predhodno centrifugirali 10 min pri 4000 min⁻¹ in jih filtrirali skozi celulozno acetatni membranski

filter 0,45 µm znamke 11106-13-N. Analite smo kvantitativno ovrednotili z umeritveno krivuljo standardnih raztopin.

Pri delu smo uporabili kemikalije: glukoza (Kemika 200-075-1), fruktoza (Merck 1.04007), glicerol (Kemika 56-81-5) in H₂SO₄ (Merck 1.00731).

3.3.13 Določanje vsebnosti organskih kislin v vinu

Kromatografija je danes najbolj razširjena tehnika ločevanja komponent vzorca, ki omogoča kvalitativno in kvantitativno določanje posameznih snovi v zmesi (Scheinder in sod., 1987). Tehnika temelji na porazdelitvi vzorca med mobilno fazo, ki je lahko tekočina ali plin in stacionarno fazo, ki je lahko trdna snov ali tekočina. Do ločitve komponent pride zaradi različnih fizikalnih in kemijskih interakcij med vzorcem ter med stacionarno in mobilno fazo.

HPLC metoda je izredno hitra zaradi enostavne priprave vzorcev (vključuje filtracijo), omogoča zadovoljivo ločbo in kvantitativno določitev vinske, jabolčne, mlečne, citronske, očetne, jantarne in piruvične kisline v moštu in vinu.

Vsebnost posameznih organskih kislin (vinske, jabolčne, mlečne in citronske) smo določali s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC). Kromatografski pogoji so bili naslednji:

- razplinjevalnik: Jour Research, X-Act,
- črpalka: Knauer, Maxi star K-1000,
- kolona: Bio-Rad, Aminex, HPX-87H, 300 x 7,8 mm, 9 µm,
- mobilna faza: 0,0125 M H₂SO₄,
- pretok mobilne faze: 0,5 mL/min,
- temperatura: 65 °C,
- volumen injiciranja: 20 µL,
- detektor: UV-VIS, Knauer,
- avtomatski podajalnik vzorcev: Spark Holland, Marathon-XT,
- zapis signala: programska oprema Eurochrom 2000.

Odvzete vzorce smo do izvajanja analiz hranili pri sobni temperaturi (20 °C) v plastičnih 10 mL epruveh. Vzorce, kjer smo določevali vsebnost organskih kislin, smo predhodno centrifugirali 10 min pri 4000 min⁻¹ in jih filtrirali skozi celulozni acetatni membranski filter velikosti por 0,45 µm znamke 11106-13-N. Analite smo kvantitativno ovrednotili z umeritveno krivuljo standardnih raztopin.

Pri delu smo uporabili kemikalije: vinsko kislino (Merck 1.00804), jabolčno kislino (Merck 1.00382), mlečno kislino (Sigma 814-80-2), jantarno kislino (Merck 1.00682) in H₂SO₄ (Merck 1.00731).

3.3.14 Kvalitativno določanje hlapnih aromatičnih snovi v vinu

Za določitev hlapnih sestavin arome v vinu smo uporabili SPME in GC-MS. Za mikroekstrakcijo na trdo fazo (SPME) smo uporabili fazo DVB/CAR/PDMS. Vzorce vina sauvignon smo termostatirali na 50 °C (terpeni) oziroma pri sobni temperaturi (aldehidi) v posodico smo vstavili SPME vlakno in ekstrahirali spojine iz plinske faze nad vzorcem

35 min (terpeni) oziroma 15 min (aldehidi). Vlakno smo nato prenesli v injektor plinskega kromatografa.

Pri plinski kromatografiji smo uporabili kolono Vocol (Supelco, ZDA), ki smo jo segrevali od 50 °C do 210 °C. Spojine smo detektirali z masno spektrometričnim detektorjem (MS) in jih identificirali na podlagi njihovih masnih spektrov (Prosen in sod., 2007).

3.3.15 Senzorične lastnosti vina

Senzorična analiza vina je analiza vina za odkrivanje harmonije med videzom, vonjem in okusom vina. Sortni vonji grozdja ali vina so sestavljeni iz raznih hlapnih snovi, ki se razlikujejo po številu in količini. Kromatografska analiza nam lahko pomaga določiti nekatere sorte, nikakor pa ne harmonije, pitnosti, značaja vina ipd., kar so v bistvu stvarne kakovosti vina, edinstvene in nenadomestljive pijače civiliziranega človeštva (Nemanič, 2006).

Kakovostno vino mora imeti poudarjeno sortno aromo, ki ni odvisna samo od porekla, sorte, stopnje zrelosti in zdravstvenega stanja grozdja, ampak tudi v veliki meri od vrelnofizioloških lastnosti kvasovk, ki opravljajo alkoholno vrenje (Wondra, 1998).

S čutili človek zazna videz, barvo, vonj, okus, temperaturo, idr. Človeška čutila kot biološki detektor so torej pri senzorični analizi merilni instrument za določanje kakovosti. V primerjavi z instrumenti, ki so sposobni analizirati le posamezne sestavine, nam naše zaznave dajo skupen vtis videza, vonja, okusa, temperature in drugih taktilnih zaznav (Košmerl in Kač, 2007).

Opisna ali deskriptivna analiza vina

Opisna ali deskriptivna analiza vina je senzorična metoda, ki omogoča strokovnjaku dobiti popoln senzoričen opis izdelka. Običajno je rezultat opisne analize niz izrazov, s katerimi je možno objektivno opisati zaznane senzorične lastnosti vina in jih nato na ustreznih intenzivnostnih lestvicah kvantitativno oceniti. Panel za deskriptivno analizo je sestavljen minimalno iz šestih članov, običajno 8-12 ali več (Golob in Jamnik, 2004).

Pri tej metodi senzoričnega ocenjevanja je senzorični ocenjevalec dolžan vino opisati z besedami in nato kvalitativno oceniti s številkami. Ti opisi služijo za boljšo zbranost in poglobljenost ocenjevalcev (Nemanič, 1996).

V našo deskriptivno senzorično analizo, kjer so senzorični ocenjevalci vino ocenili s točkami od 1 do 5, smo vključili senzorične deskriptorje, kot so težka tropska aroma (vonj po pasijonki, mangu), sveža tropska aroma (vonj po limoni, grenivki), fermentacijska aroma (vonj po hruški, jabolku), prikrivanje sortnih arom (vonj po zeleni papriki) ter celokupna kakovost vina (ocenjevanje okusa in arome).

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 REZULTATI ANALIZ MOŠTA

V preglednici so prikazani rezultati osnovnih analiz mošta sorte sauvignon iz Ptujске kleti, letnik 2010, ki je bila opravljena pred fermentacijskim poskusom.

Preglednica 7: Osnovni kemijski parametri mošta sorte sauvignon 2010

| Parameter | Enota | Vrednost/koncentracija |
|----------------------------|---------------|------------------------|
| sladkorna stopnja | °Oe | 75 |
| pH | / | 3,23 |
| titrabilne kisline (7,0) | g/L | 8,12 |
| skupne kisline (8,2) | g/L | 8,35 |
| kislodelujoče soli | mg/L | 238 |
| prosti SO ₂ | mg/L | 10 |
| skupni SO ₂ | mg/L | 37 |
| vezani SO ₂ | mg/L | 27 |
| kislinska pufna kapaciteta | mmol/L/0.5 pH | 24,94 |
| bazična pufna kapaciteta | mmol/L/0.5 pH | 33,07 |
| dejanska pufna kapaciteta | mmol/L/pH | 58,0 |
| FAN | mg N/L | 124,7 |

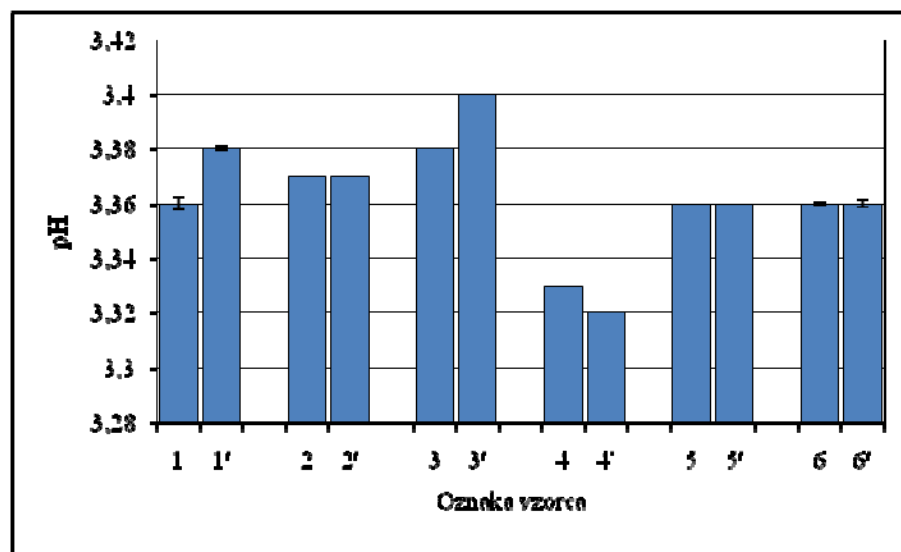
4.2 REZULTATI ANALIZ VINA

4.2.1 Rezultati vrednosti pH vina

Med fermentacijo lahko pride do spremembe vrednosti pH zaradi tvorbe etanola, izločanja vinskega kamna, porabe aminokislin, jabolčno-mlečnokislinske fermentacije in tvorbe jantarne kisline (Bisson in sod., 1996).

Običajno je pH mladega vina večja od pH mošta, iz katerega je vino pridelano (Košmerl in Kač, 2007). Vrednost pH lahko v okviru eksperimentalne napake odstopa za $\pm 0,10$ enote (Navodila o..., 2001).

Po končani fermentaciji smo izmerili vrednost pH v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev in standardni odmik so prikazani na sliki 3 in v prilogah.



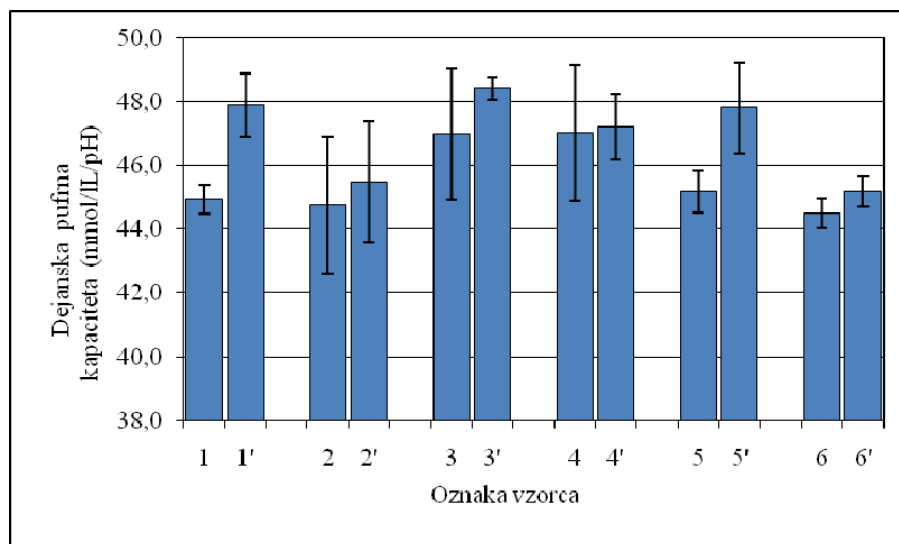
Slika 3: Vrednost pH v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Vrednosti pH vina sauvignon se je v primerjavi z moštom povečala za 0,2 pH enoti, kar je v skladu s pričakovanjem. Največjo vrednost pH je imel vzorec 3' (3,40), najmanjšo vrednost pH pa vzorec 4' (3,32). Da je vrednost pH nekoliko manjša pri vzorcih 4 in 4' je lahko posledica večje tvorbe kislin v ciklu trikarboksilnih kislin. Standardni odmiki med ponovitvama posameznih vzorcev so zanemarljivo majhni.

4.2.2 Rezultati pufrne kapacitete vina

Pufarno kapaciteto vina opišemo kot lastnost vina, da se njegov pH ob dodatku znatnih količin kislin ali baz bistveno ne spremeni. Definirana je kot množina H_3O^+ ali OH^- ionov, ki jih moramo dodati enemu litru vzorca, da se njegov pH spremeni za eno enoto. Njena številčna vrednost je obratno sorazmerna naklonu titracijske krivulje v območju pH mošta ali vina. Podatek je pomemben za razumevanje sprememb pH. Enota pufrne kapacitete so moli oksonijevih ali hidroksidnih ionov, ki jih dodamo na liter, da dosežemo spremembo vrednosti pH za eno enoto. Podatek je pomemben za razumevanje sprememb pH. Vino je raztopina različnih šibkih organskih kislin, zato lahko pufarno kapaciteto, ki je aditivna lastnost, ocenimo na osnovi koncentracije vsake posamezne kisline in konstante disociacije (vrednosti pK_a) vsake kisline (Košmerl in Kač, 2007).

Po končani fermentaciji smo izmerili vrednost dejanske pufrne kapacitete v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev in standardni odmik so prikazani na sliki 4 in v prilogah.



Slika 4: Vrednost dejanske pufne kapacitete (mmol/L/pH) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

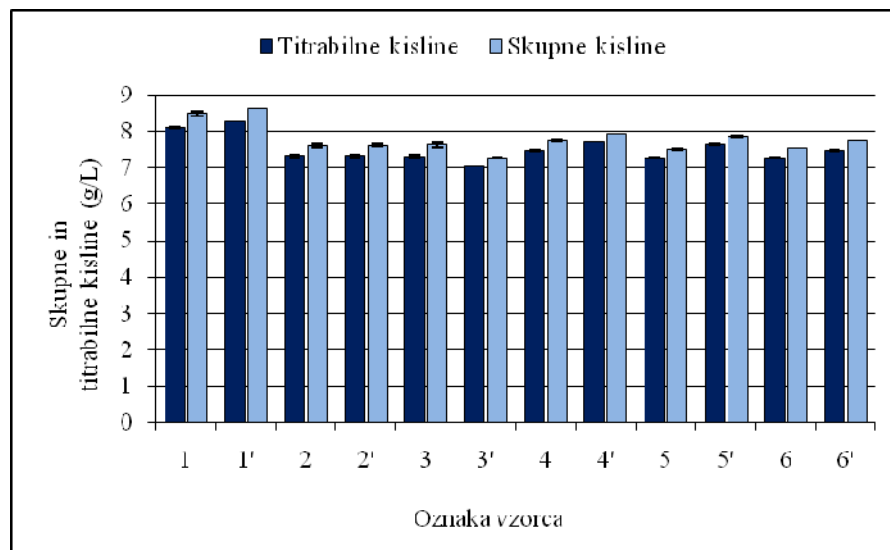
Vrednosti dejanske pufne kapacitete (slika 4) so bile v vseh vzorcih manjše kot v moštu (preglednica 7). Manjše vrednosti smo po pričakovanjih določili tudi v vzorcih, ki so bili med alkoholno fermentacijo izpostavljeni kontrolirani nižji fermentacijski temperaturi. V vzorcu 3' smo določili največjo vrednost dejanske pufne kapacitete (48,4 mmol/L/pH), najmanjšo pa v vzorcu 6 (44,5 mmol/L/pH). Standardni odmiki med ponovitvama posameznih vzorcev so bili pri nekaterih vzorcih veliki, vendar še vedno v okviru dovoljene eksperimentalne napake.

4.2.3 Rezultati skupnih (titrabilnih) kislin v vinu

Grozdje vsebuje različne šibke karboksilne kisline. Med dozorevanjem je značilno zmanjševanje koncentracije kislin in s tem posledično večanje pH. Vsebnost karboksilnih kislin izražamo kot množino vinske kisline na liter mošta oziroma vina, glede na določanje (pH končne točke titracije) pa sta v uporabi izraza skupne kisline in titrabilne (titracijske) kisline. Med alkoholno fermentacijo in po njej nastajajo poleg vinske, jabolčne, mlečne in jantarne kisline še citronska, očetna, propionska, piruvična, glikolna, glikonska, oksalna, galakturonska in fumarna kislina. Skupna vsebnost karboksilnih kislin v grozdnem soku, moštu in vinu je med 6 in 9 g/L vzorca (Košmerl in Kač, 2007). Koncentracija skupnih kislin v okviru eksperimentalne napake lahko odstopa za $\pm 0,8$ g vinske kisline/L (Navodila o..., 2001).

Kisel okus vina zaradi vseh naštetih kislin je prekrit zaradi vsebnosti alkohola, reducirajočih sladkorjev in različnih kationov. Kislost vin povezujemo z vsebnostjo skupnih (titrabilnih) kislin, s pH, z relativno vsebnostjo disociiranih in nedisociiranih kislin, pufno kapaciteto in relativno vsebnostjo vsake posamezne kisline. Vse kisline so bolj ali manj kisle in dajejo vinu značilne senzorične poudarke (zlasti maščobne kisline so zaradi vonja nezaželeni).

Po končani fermentaciji smo izmerili vrednost skupnih in titrabilnih kislin v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev in standardni odmik so prikazani na sliki 5 in v prilogah.



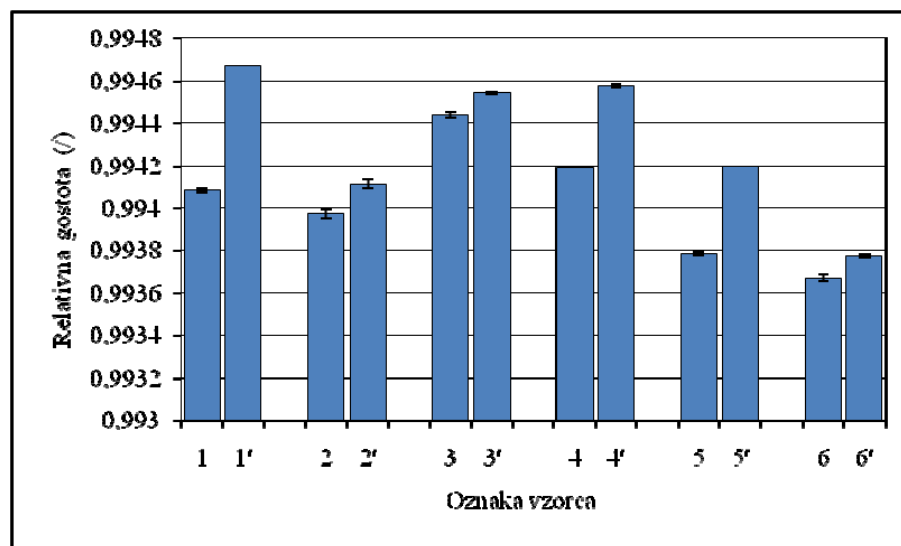
Slika 5: Vsebnost skupnih in titrabilnih kislin (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Verjetno zaradi novo nastalih kislin med fermentacijo je bila koncentracija skupnih in titrabilnih kislin nekoliko večja v vzorcih 1 in 1', kot v moštu (preglednica 7). Največjo koncentracijo skupnih in titrabilnih kislin je imel vzorec 1' (8,63 in 8,26 g/L), najmanjšo vzorec 3' (7,29 in 7,06 g/L). Standardni odmiki med posameznima ponovitvama vzorcev so bili zanemarljivo majhni. Titrabilne in skupne kisline so v vseh vzorcih vina v predpisanem območju (med 6 in 9 g vinske kisline/L). Standardni odmiki med ponovitvama posameznih vzorcev so zanemarljivo majhni.

4.2.4 Rezultati relativne gostote vina

Relativna gostota je razmerje med gostoto vina in gostoto vode pri 20 °C. Na gostoto vzorca vina vplivajo vse raztopljene snovi. To so sladkorji, kisline, glicerol (specifično težje) ali alkohol (specifično lažji od vode). Suha vina imajo relativno gostoto okoli 1 (Košmerl in Kač, 2007). Relativna gostota lahko v okviru eksperimentalne napake odstopa za $\pm 0,00050$ (Navodila o ..., 2001).

Po končani fermentaciji smo izmerili vrednost relativne gostote v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev in standardni odmik so prikazani na sliki 6 in v prilogah.



Slika 6: Relativna gostota v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Vrednosti relativne gostote so v vseh vzorcih dokaj podobne. V vzorcih, katerih je alkoholna fermentacija potekala pri kontrolirani temperaturi, je relativna gostota manjša, kot pri ostalih vzorcih. Najmanjšo relativno gostoto je imel vzorec 6 (0,99367), največjo vrednost pa je dosegel vzorec 1' (0,99467). Da je v vzorcih 6 in 6' najmanjša relativna gostota, je verjetno posledica boljše pretvorbe sladkorjev, kar se kaže tudi v povečani koncentraciji alkohola. Standardni odmiki med ponovitvama posameznih vzorcev so zanemarljivo majhni.

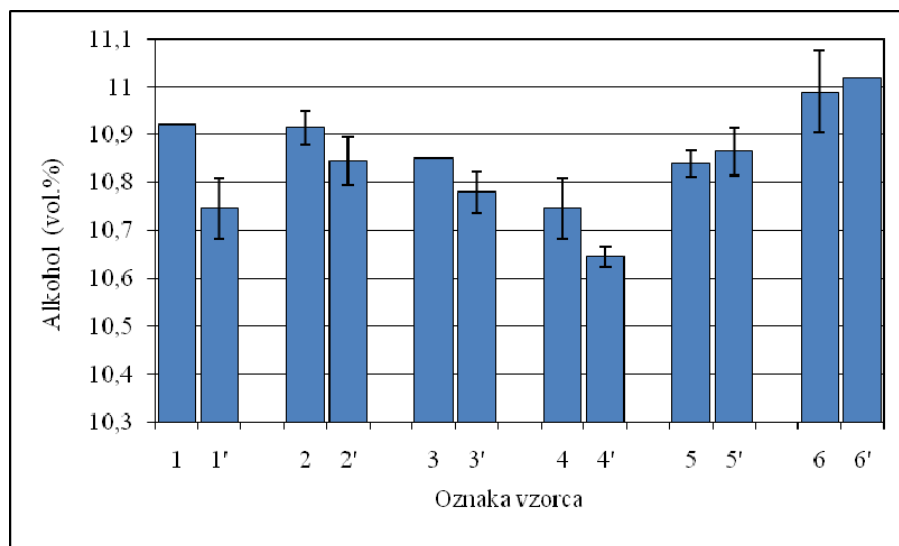
4.2.5 Rezultati alkohola v vinu

Glavni produkt alkoholne fermentacije kvasovk, ki jih dodamo moštu, je etanol. Koncentracija etanola v vinu je odvisna od sorte, načina trgatve (ročna ali strojna), vsebnosti fermentabilnih sladkorjev, dodanih kvasovk, temperature fermentacije, vsebnosti hranilnih snovi v moštu in ostalih razmer med alkoholno fermentacijo.

Po vsebnosti alkohola vina razdelimo na (Šikovec, 1987):

- lahka s 60 do 80 g/L etanola (okrog 7,5 do 10 vol.%),
- srednje težka z 80 do 100 g/L etanola (okrog 10 do 12 vol.%),
- težka z nad 100 g/L etanola (nad 12,5 vol.%).

Po končani fermentaciji smo izmerili vsebnost alkohola v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev in standardni odmik so prikazani na sliki 7 in v prilogah.



Slika 7: Vsebnost alkohola (vol.%) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Vsebnost alkohola je bila največja v vzorcu 6' (11,02 vol.%), najmanjša pa v vzorcu 4' (10,65 vol.%). Vsi vzorci so imeli razmeroma majhna odstopanja med ponovitvama določitve posameznih vzorcev. Večje odstopanje med ponovitvama je bilo le pri vzorcu 6, vendar je dovoljeno odstopanje med ponovitvama $\pm 0,4$ vol.% (Navodila o ..., 2001), po Pravilniku o pogojih..., 2004) pa celo $\pm 0,5$ vol.%. Standardni odmiki med ponovitvama posameznih vzorcev so bili pri nekaterih vzorcih veliki, vendar še vedno v okviru dovoljene eksperimentalne napake.

Glede na vsebnost alkohola vzorce lahko uvrstimo v kategorijo srednje težkih vin, saj so vsebovali med 10 in 12,5 vol.% alkohola.

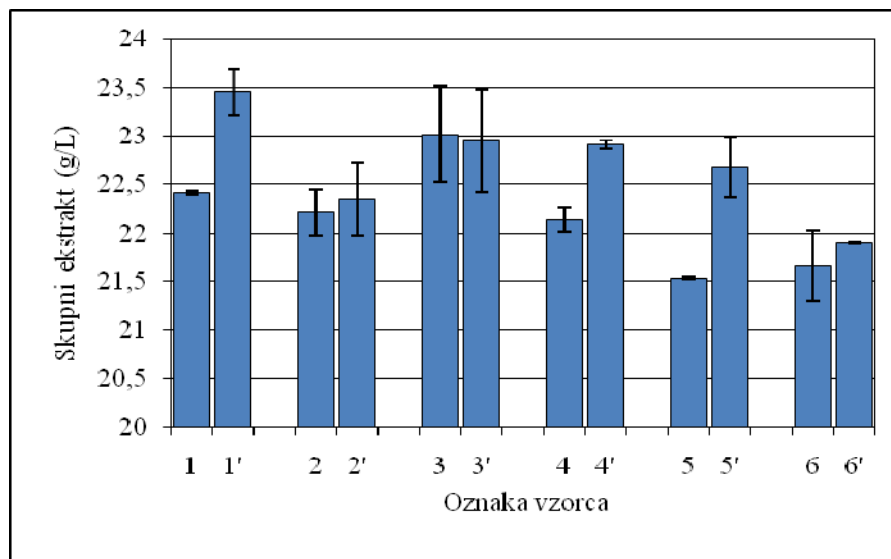
4.2.6 Rezultati skupnega in sladkorja prostega ekstrakta v vinu

Skupni ekstrakt vina sestavljajo po definiciji O.I.V. nehlapne komponente vina (sladkorji, fiksne kisline, organske soli idr.) pri 100 °C. Na osnovi vsebnosti ekstrakta vina lahko sklepamo na začetno vsebnost sladkorja v moštu, iz katerega je bilo vino pridelano.

Sladkorja prosti ekstrakt (SPE) je po definiciji razlika med skupnim (suhim) ekstraktom in reducirajočimi sladkorji. Rdeča vina imajo več sladkorja prostega ekstrakta v primerjavi z rdečkastimi, rosé in belimi vini. Vsebnost ekstrakta je odvisna od sorte, zrelosti, načina trgatve in razmer ali pogojev vinifikacije. Vpliv različnih sevov čiste kulture kvasovk v primerjavi s spontano fermentacijo po literarnih podatkih ni statistično značilen.

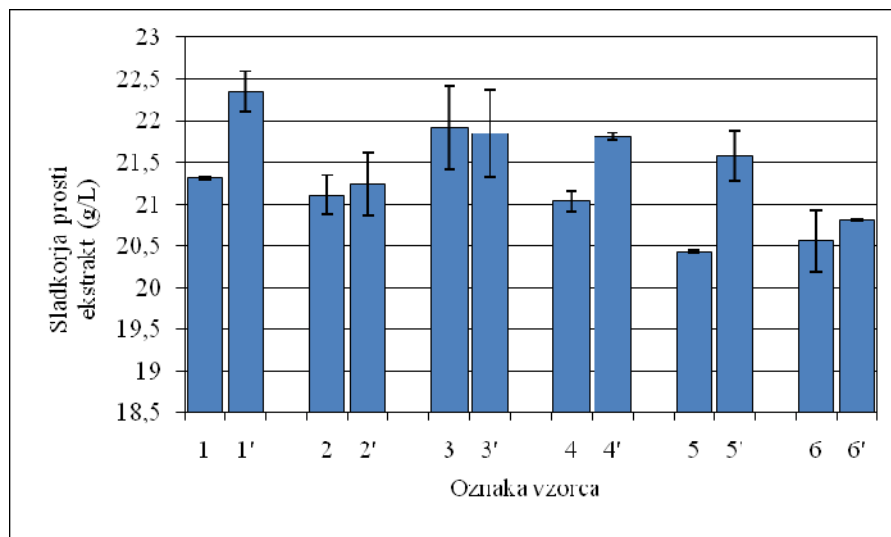
Vsebnost sladkorja prostega ekstrakta je 7-30 g/L (povprečje 20 g/L); minimalne vrednosti so zakonsko predpisane (Pravilnik o pogojih ..., 2004; Košmerl in Kač, 2007). Sladkorja prosti ekstrakt lahko v okviru eksperimentalne napake odstopa za $\pm 1,5$ g/L (Navodila o ..., 2001).

Po končani fermentaciji smo določili vsebnost skupnega ekstrakta in izračunali sladkorja prosti ekstrakt v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev in standardni odmik so prikazani na sliki 8 in 9 ter v prilogah.



Slika 8: Vsebnost skupnega ekstrakta (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Vsi vzorci vina imajo koncentracijo skupnega ekstrakta (SE) večjo od 21,53 g/L. Največjo koncentracijo skupnega ekstrakta je imel vzorec 1' (23,46 g/L), najmanjšo koncentracijo pa vzorec 5 (21,53 g/L). V povprečju je bila koncentracija SE večja pri vzorcih, ki so med alkoholno fermentacijo bili izpostavljeni kletni temperaturi. Standardni odmiki med ponovitvama posameznih vzorcev so bili pri nekaterih vzorcih veliki, vendar še vedno v okviru dovoljene eksperimentalne napake.



Slika 9: Vsebnost sladkorja prostega ekstrakta (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

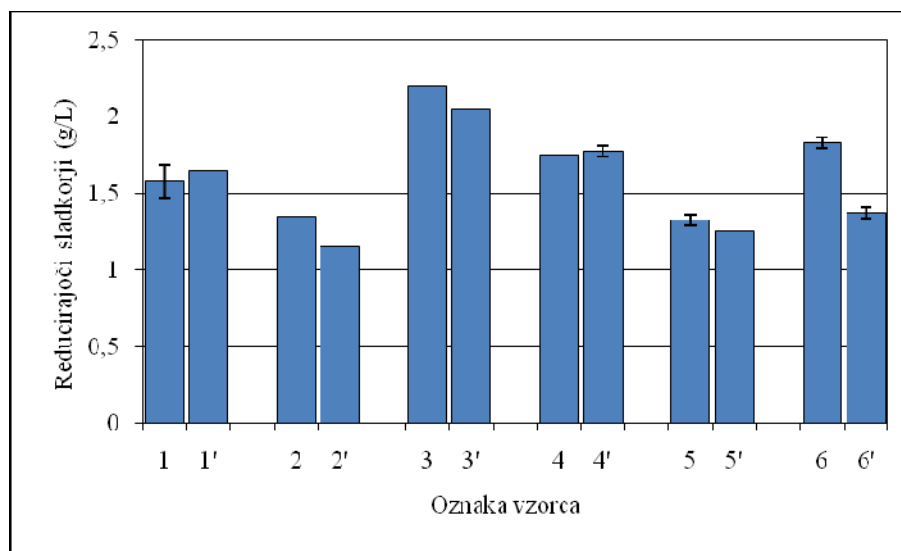
Prav tako je imel vzorec 1' največjo koncentracijo sladkorja prostega ekstrakta (SPE) (22,52 g/L), najmanjšo pa vzorec 5 (20,43 g/L). Po koncentraciji SPE lahko vsa pridelana mlada vina uvrstimo med vrhunska vina ZGP z več kot 20 g/L (Pravilnik o pogojih..., 2004), ne glede na uporabljen sev kvasovk.

4.2.7 Rezultati reducirajočih sladkorjev v vinu

Vsebnost sladkorja v dozorevajočem grozdju je pomemben dejavnik pri določanju časa trgatve in kakovosti pridelka. Ker sladkor predstavlja več kot 90 % vseh raztopljenih snovi, je določanje le-teh približna mera vsebnosti sladkorja v grozdju in moštu. Med alkoholno fermentacijo poteče encimska hidroliza (naravno prisotne ali dodane) saharoze v glukozo in fruktozo, ki ju kvasovke lahko povrejo. V vinu je tako praktično komaj kaj saharoze. Popolnoma suha vina vsebujejo približno 1 g reducirajočih sladkorjev/L. V tej koncentraciji so zajeti zlasti nefermentabilni reducirajoči sladkorji, npr. pentoze (arabinoza, ramnoza in ksiloza), medtem ko je skupna koncentracija fermentabilnih; glukoze in fruktoze minimalna (0,1-0,2 g/L) (Košmerl in Kač, 2007).

Koncentracija reducirajočih sladkorjev lahko v okviru eksperimentalne napake odstopa za $\pm 0,8$ g/L (Navodila o..., 2001).

Po končani fermentaciji smo določili vsebnost reducirajočih sladkorjev v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev in standardni odmik so prikazani na sliki 10 in v prilogah.



Slika 10: Vsebnost reducirajočih sladkorjev (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Mošt je vseboval začetno sladkorno stopnjo 75 °Oe. Iz slike 10 je razvidno, da se koncentracije reducirajočih sladkorjev med posameznimi vzorci ne razlikujejo veliko. A kljub temu je največjo koncentracijo reducirajočih sladkorjev vseboval vzorec 3 (2,2 g/L), najmanjšo koncentracijo pa vzorec 2' (1,15 g/L). Vzrok za manjšo koncentracijo reducirajočih sladkorjev pri vzorcu 2', v primerjavi z ostalimi, so lahko dobre

fermentacijske sposobnosti dodanih kvasovk. Razlika med vzorci je bila 1,05 g/L. Standardni odmiki med ponovitvama posameznih vzorcev so zanemarljivo majhni.

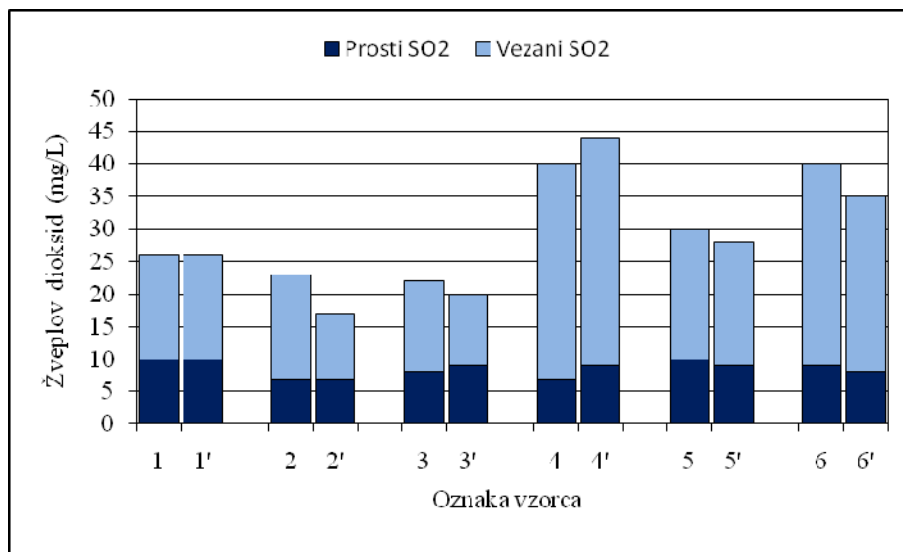
Glede na koncentracijo reducirajočih sladkorjev lahko mlada vina okarakteriziramo kot suho vino, saj koncentracija reducirajočih sladkorjev ne presega 9 g/L (Pravilnik o pogojih ..., 2004; Pravilnik o spremembah ..., 2005).

4.2.8 Rezultati prostega in skupnega žveplovega dioksida v vinu

Drozgo ali mošt žveplamo, če je grozdje gnilo ali poškodovano, mošt iz zdravega grozdja pa lahko pustimo brez žvepla vse do prvega pretoka vina. Žveplov dioksid preprečuje delovanje oksidacijskih encimov in kasneje pospešuje bistrenje mošta. Premalo ali ob nepravem času žveplana vina pa se hitro starajo, imajo zaradi oksidacije flavonoidov intenzivno rjavkasto barvo in zaradi prostega acetaldehida izgubijo svežino ter dobijo top, oksidiran vonj in okus (Šikovec, 1993).

Žveplov dioksid se vinu nahaja kot sekundarni produkt metabolizma prisotnih kvasovk (v skupni obliki) in zaradi dodatkov med kletarjenjem. Že same kvasovke tvorijo žveplov dioksid v koncentracijah do 15 mg/L. Še večje koncentracije pa so posledica uporabe enoloških sredstev, ki vsebujejo žveplov dioksid (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

Po končani fermentaciji smo izmerili vsebnost žveplovega dioksida v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev in standardni odmik so prikazani na sliki 11 in v prilogah.



Slika 11: Vsebnost žveplovega dioksida (mg/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Pri analizi mošta je bila koncentracija skupnega SO₂ 37 mg/L. Če primerjamo koncentracijo skupnega žveplovega dioksida v mladem vinu sorte sauvignon (slika 11), se je pri nekaterih vzorcih koncentracija zmanjšala, kar je verjetno posledica tvorbe nekaterih »porabnikov« med procesom predelave vina, pri vzorcih 4 in 4' ter 6 in 6' pa se je

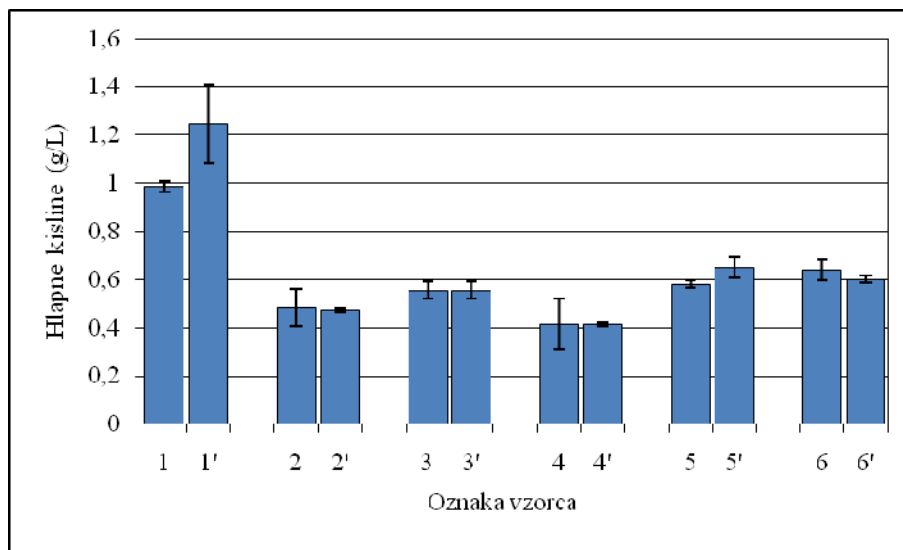
koncentracija žveplovega dioksida povečala. Največjo koncentracijo skupnega SO₂ je imel vzorec 4' (44 mg/L), najmanjšo vzorec 2' (17 mg/L).

4.2.9 Rezultati hlapnih kislin v vinu

Hlapne kisline v vinu so predvsem očetna, mravljinčna in butanojska kislina. Majhne koncentracije hlapnih kislin (do 0,3 g očetne kisline/L) nastanejo kot stranski produkt med alkoholno fermentacijo (Košmerl in Kač, 2007).

Hlapne kisline v vinu predstavljajo zdravstveno stanje vina, saj je njihov glavni predstavnik očetna kislina. Njihova koncentracija je zakonsko določena, in sicer za kakovostna in vrhunska vina z geografskim poreklom ne sme presegati 1,0 g očetne kisline/L (Pravilnik o pogojih..., 2004). Koncentracija hlapnih kislin lahko v okviru eksperimentalne napake odstopa za ±0,15 g očetne kisline/L (Navodila o..., 2001).

Po končani fermentaciji smo določili vsebnost hlapnih kislin v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev in standardni odmik so prikazani na sliki 12 in v prilogah.



Slika 12: Vsebnost hlapnih kislin (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

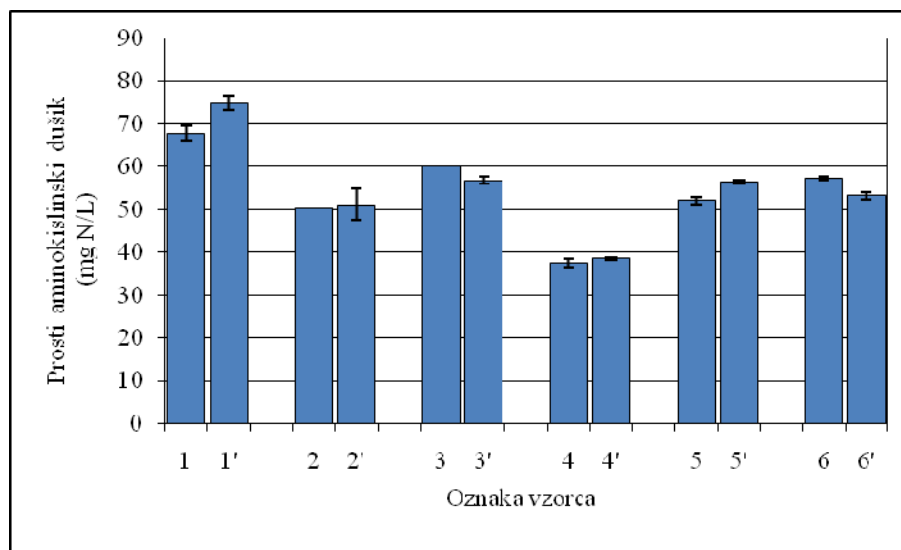
Očetna kislina ima v normalnih koncentracijah v vinu pomembno vlogo kot aromatična spojina pri tvorbi estrov. Pojavi se že med fermentacijo pod vplivom kvasovk, povečane koncentracije, več kot 0,8 g/L pa so lahko posledica delovanja škodljivih mikroorganizmov, predvsem očetnokislinskih bakterij. Prisotnost očetne kisline v vzorcu 1' (1,2 g/L) je bila nad dovoljeno koncentracijo, kar pa se kasneje na senzorični oceni ni poznalo, kljub temu da jo v koncentraciji nad 0,7 g/L zaznamo. Ostali vzorci so imeli vsebnosti med 0,42 in 0,64 g/L hlapnih kislin. Standardni odmiki med ponovitvama posameznih vzorcev so zanemarljivo majhni.

4.2.10 Rezultati FAN v vinu

Aminokislinska sestava mošta je skupaj s koncentracijo sladkorjev in skupnih kislin glavni kakovostni parameter kemijske sestave mošta. Aminokislina so med alkoholno fermentacijo pomemben vir dušika za kvasovke, ki jih izkoriščajo za izgradnjo lastnih strukturnih in funkcijskih beljakovin. Tako posledično vplivajo na rast kvasne biomase, normalen potek fermentacije in sodelujejo pri tvorbi aromatičnih snovi vina.

Med fermentacijo se koncentracije posameznih aminokislin različno hitro zmanjšujejo, odvisno tudi od metabolne aktivnosti posameznih sevov kvasovk.

Po končani fermentaciji smo izmerili vsebnost prostega aminokislinskega dušika v pridelanem mlademu vinu. Povprečje posameznih vzorcev in standardni odmik so prikazani na sliki 13 in v prilogah.



Slika 13: Vsebnost FAN (mg N/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Koncentracija prostega aminokislinskega dušika v moštu je znašala 124,7 mg N/L. Med alkoholno fermentacijo se je koncentracija pričakovano zmanjšala. Najmanjšo koncentracijo FAN (slika 13) je vseboval vzorec 4 (37,6 mg N/L), največjo pa vzorec 1' (67,8 mg N/L). Iz rezultatov lahko sklepamo, da je uporabljen sev kvasovk v vzorcih 4 in 4' za svoj metabolizem potreboval več aminokislin (in amoniaka) v primerjavi s preostalimi sevi kvasovk. Standardni odmiki med ponovitvama posameznih vzorcev so zanemarljivo majhni.

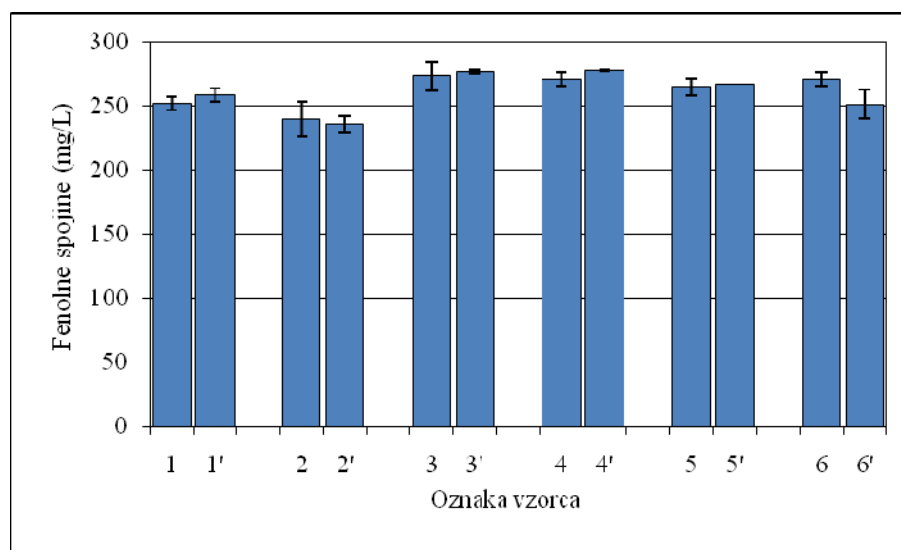
4.2.11 Rezultati skupnih fenolnih spojin v vinu

Fenolne spojine so za vino pomembne, saj dajejo barvo, vplivajo na vonj in okus, so osnova za staranje vina, delujejo kot antioksidanti ter imajo protimikrobno aktivnost (Bavčar, 2006). Vsebnost fenolov v vinu ni zakonsko omejena.

Na koncentracijo skupnih fenolnih snovi v vinu vplivajo številni dejavniki: čas kontakta grozdnega soka s kožicami in pečkami, koncentracija etanola, temperatura fermentacije, mešanje soka in kožic (pri maceraciji), intenzivnost stiskanja, sorta vinske trte idr. (Košmerl in Kač 2007).

Klasično pridelana bela vina vsebujejo 100-400 mg polifenolov na liter vina, od teh je večina neflavonoidov (flavonoidov je le 20-40 mg/L). Neflavonoidi se nahajajo izključno v grozdnem soku.

Po končani fermentaciji smo določili vsebnost skupnih fenolnih spojin v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev in standardni odmik so prikazani na sliki 14 in v prilogah.



Slika 14: Vsebnost fenolnih spojin (mg/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Iz slike 14 je razvidno, da vsi vzorci vsebujejo podobno koncentracijo fenolnih spojin (250-270 mg/L). Vzorca 2 in 2' sta imela le za malenkost manjšo vsebnost fenolnih spojin (239 in 230 mg/L) kot ostali vzorci. Standardni odmiki med ponovitvama posameznih vzorcev so zanemarljivo majhni.

4.2.12 Rezultati intenzitete barve vina

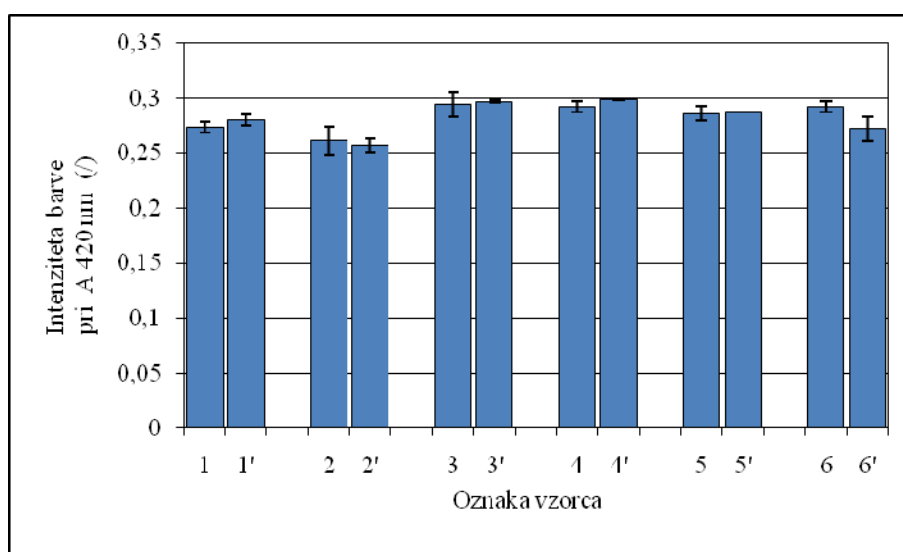
Intenziteta barve je odvisna od različnih dejavnikov, kot so sorta grozdja, stopnja zrelosti, zdravstveno stanje grozdja, količine dodatkov žveplovega dioksida in ostalih enoloških sredstev.

Bela vina vsebujejo sledove nekaterih barvil, kot so klorofil, karotin in ksantofil. V hladnih klimatskih razmerah vsebuje grozdje bistveno več klorofila, ki obarva vino zaznavno zelenkasto v primerjavi s svetlo rumeno do rumenkastorjavo (jantarno) barvo vina, ki pomeni, da sledovi klorofila niso opazni (Košmerl in Kač, 2007).

Barvo opisujemo različno glede na spekter absorbirane in prepuščene svetlobe, pri čemer vse subjektivne zaznave ne pomenijo jasno definirane fizikalne veličine (intenziteta barve, odtenek barve, spekter svetlobe). Človeško oko ni sposobno razlikovati posameznih komponent barve ločeno po valovnih dolžinah, ampak jih zaznamo samo kot celoto. Številna barvila in pigmente v vinu zaznamo običajno kot odtenek barve ali intenziteto barve.

Poleg pH vpliva na barvo vina tudi žveplov dioksid in alkohol. Z naraščanjem vrednosti pH, večanjem koncentracije SO₂ in alkohola se zmanjšuje absorbanca pri 420 nm.

Po končani fermentaciji smo izmerili intenziteto barve v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev in standardni odmik so prikazani na sliki 15 in v prilogah.



Slika 15: Intenziteta barve pri A 420 nm v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Intenziteta barve pridelanih mladih vin (slika 15), ki smo jo določili z merjenjem absorbance pri valovni dolžini 420 nm, so se gibala v območju med 0,257 (vzorec 2') in 0,299 (vzorec 4'). Iz posnetega absorpcijskega spektra vzorcev lahko sklepamo na odtenek rumene oziroma zelene barve v vinu.

Vzorca 4 in 4' sta imela najmanjšo vrednost pH in najmanjšo stopnjo alkohola (slika 3 in 7) njuna intenziteta barve pa je bila največja (slika 15), kar ni v skladu s pričakovanji.

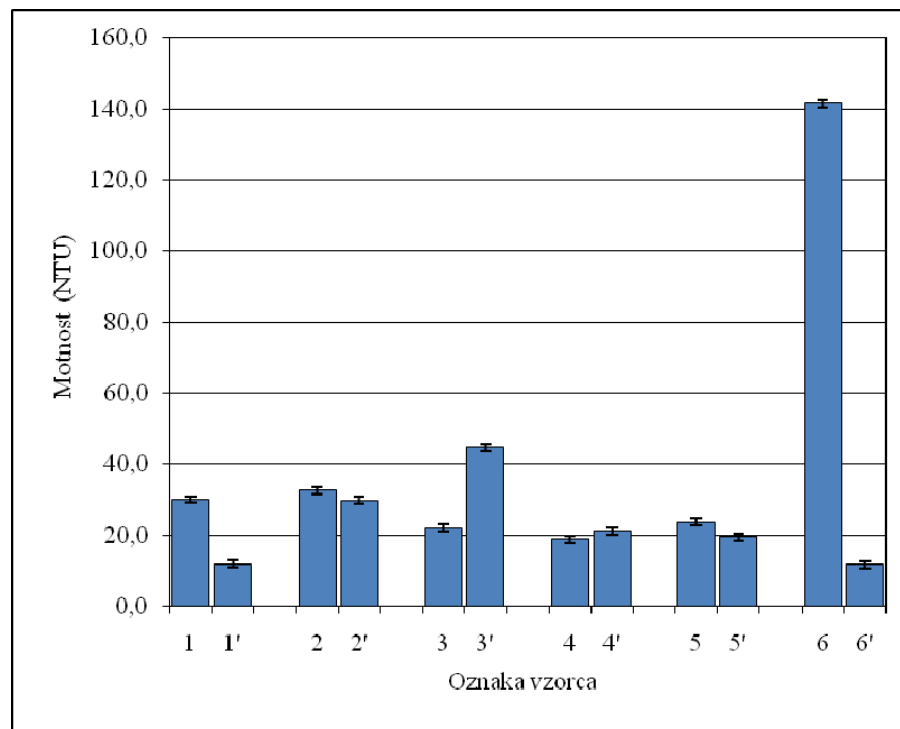
Standardni odmiki med ponovitvama posameznih vzorcev so zanemarljivo majhni.

4.2.13 Rezultati motnosti v vinu

Vzroki motnosti in prisotnosti trdnih delcev v vinu so običajno kemijska pomanjkljivost, ki jo lahko povzročajo koagulirane beljakovine, polifenolni koloidi, kovine (predvsem bakrovi in železovi ioni) ter kristali vinskega kamna. Pri stabilizaciji vina na omenjene komponente in navezujoči filtraciji lahko dobimo kristalno bistra vina, sicer pa je možna tudi meglica, opalescenca in motnost vina, z ali brez usedline (Košmerl in Wondra, 2007).

Motnost se izraža v enotah NTU - nefelometričnih turbidimetričnih enotah. Za motnost ni predpisana nobena analitska metoda, niti največja dovoljena vrednost za motnost vina, kot npr. v Kanadi, kjer je lahko motnost belih vin do največ 5 NTU.

Po končani fermentaciji smo izmerili motnost v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev in standardni odmik so prikazani na sliki 16 in v prilogah.



Slika 16: Vrednost motnosti (NTU) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

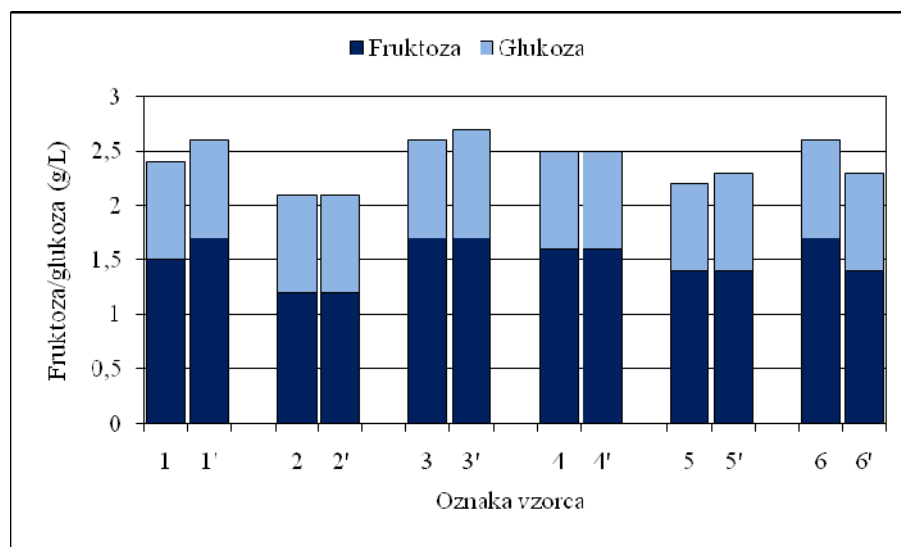
Vzorci se po motnosti med seboj kar precej razlikujejo. Če bi upoštevali kanadski predpis, potem noben vzorec ne bi ustrezal tem merilom, saj sta najmanjšo vrednost motnosti imela le vzorec 1' in 6' (11,9 NTU). Največja motnost je bila izmerjena v vzorcu 6 (140,5 NTU), kar je najverjetneje v povezavi z velikim številom še aktivnih kvasovk, ki niso zaključile s fermentacijo. Standardni odmiki med ponovitvama meritev posameznih vzorcev so zanemarljivo majhni.

4.2.14 Rezultati fruktoze in glukoze v vinu

Heksoze so najpomembnejši in tudi količinsko najbolj zastopani ogljikovi hidrati, tako v moštu, kot tudi v vinu. Skupna koncentracija glukoze in fruktoze v zrelem grozdju je med 150 in 300 g/L, večinoma pa med 180 in 220 g/L.

Kvasovke so sposobne fermentirati oba monosaharida, vendar enostavneje izkoriščajo glukozo in jo tako tudi prvo porabijo, nato pa fermentirajo še fruktozo (Wondra, 2007). V preostanku reducirajočih sladkorjev v vinu tako prevladuje fruktoza, ki je tudi slajša (indeks sladkosti 120) kot glukoza (indeks sladkosti 80).

Po končani fermentaciji smo določili vsebnosti glukoze in fruktoze v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev je prikazano na sliki 17 in v prilogah.



Slika 17: Vsebnosti fruktoze in glukoze (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Rezultati kažejo na razlike v končni vsebnosti glukoze in fruktoze v pridelanih vzorcih mladih vin. V vseh vzorcih so kvasovke med fermentacijo v večjem obsegu izkoristile glukozo, zato je bila njena koncentracija v vzorcih mladih vin praktično enaka. Koncentracija fruktoze pa se med vzorci razlikuje. Najmanjša koncentracija fruktoze je bila v vzorcih 2 in 2' (1,2 g/L), kar pomeni da je ta sev kvasovk za svoje razmnoževanje oziroma rast porabil več sladkorja kot ostali sevi kvasovk.

4.2.15 Rezultati glicerola v vinu

Glicerol je alkohol s tremi hidroksilnimi (-OH) skupinami, ki nastaja kot sekundarni produkt alkoholne fermentacije. Glicerol deluje sladkastega okusa in pripomore k občutku popolnosti, predvsem v belih suhih vinih, kjer ga je poleg vode in etanola največ. Glicerol je v vinu stabilen, lahko pa služi kot vir ogljika za mikroorganizme, kot so očetnokislinske in nekatere mlečnokislinske bakterije.

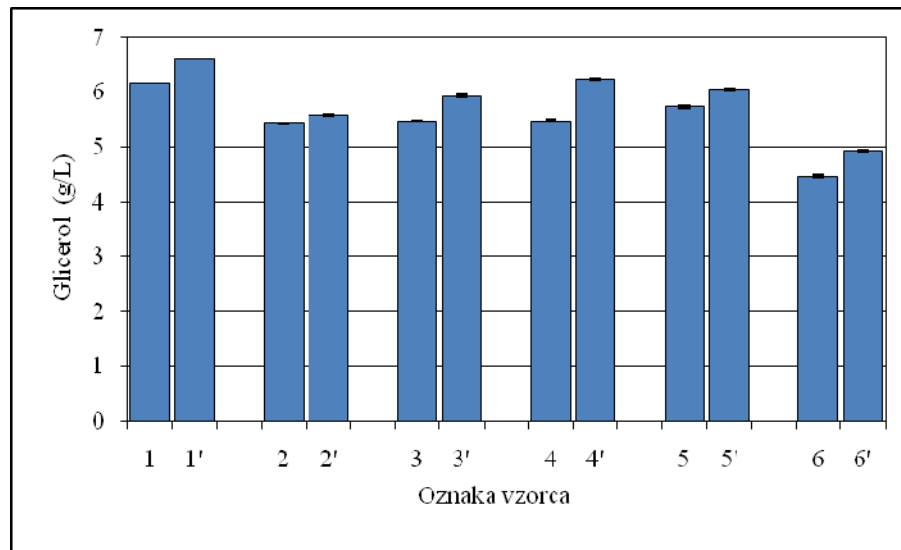
Ribéreau-Gayon in sod. (2000) navajajo, da nekateri sevi mlečnokislinskih bakterij razgrajujejo glicerol z encimom glicerol dehidratazami (ali glicerol hidroliazami) v končni produkt akrolein, ki daje vinu značilno grenkobo; ali pa razgrajujejo glicerol v piruvat, ki se najprej pretvarja v očetno kislino in akrolein.

Na končno koncentracijo glicerola vpliva več dejavnikov:

- temperatura fermentacije, v intervalu od 15 do 25 °C se koncentracija glicerola povečuje,
- različni sevi kvasovk izkazujejo različne sposobnosti tvorbe glicerola, od 4,2 do 10,4 g/L,
- koncentracije razpoložljivih sladkorjev v moštu,

- koncentracija dušikovih spojin in razmerje aminokislin,
- koncentracija žveplovega dioksida.

Po končani fermentaciji smo določili vsebnost glicerola v pridelanem mladem vinu. Povprečje posameznih vzorcev je prikazano na sliki 18 in v prilogah.



Slika 18: Vsebnost glicerola (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Po pričakovanjih se je več glicerola tvorilo med alkoholno fermentacijo vzorcev pri višji fermentacijski temperaturi, kar pa senzorično nismo zaznali. Največjo koncentracijo glicerola je imel vzorec 1' (6,62 g/L), najmanjšo vzorec 6 (4,47 g/L). Predpisana najmanjša vsebnost glicerola v kakovostnih in vrhunskih vinih ZGP je 5 oz. 6 g/L (Pravilnik o pogojih..., 2004).

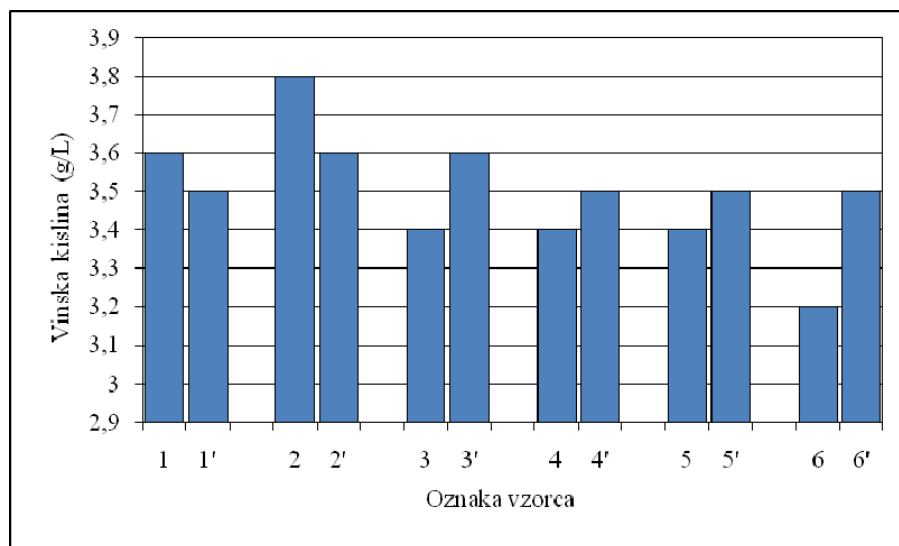
4.2.16 Rezultati organskih kislin v vinu

Organske kisline so običajno tvorijo z nepopolno oksidacijo sladkorja.

Po končani fermentaciji vina smo določili koncentracijo organskih kislin v pridelanem mladem vinu s pomočjo HPLC. Povprečja posameznih vzorcev so prikazana na slikah 19-22 in v prilogah.

4.2.16.1 Rezultati vinske kisline v vinu

Vinska kislina nastaja v grozdnih jagodah, deloma tudi v listih vinske trte (Šikovec, 1993). Vino vsebuje 2-10 g/L vinske kisline, kar je kar 20-70 % celotne koncentracije skupnih kislin (Košmerl, 1999). Po pravilniku je najmanjša zahtevana koncentracija vinske kisline v vinu 1 g/L (Pravilnik o pogojih..., 2004).

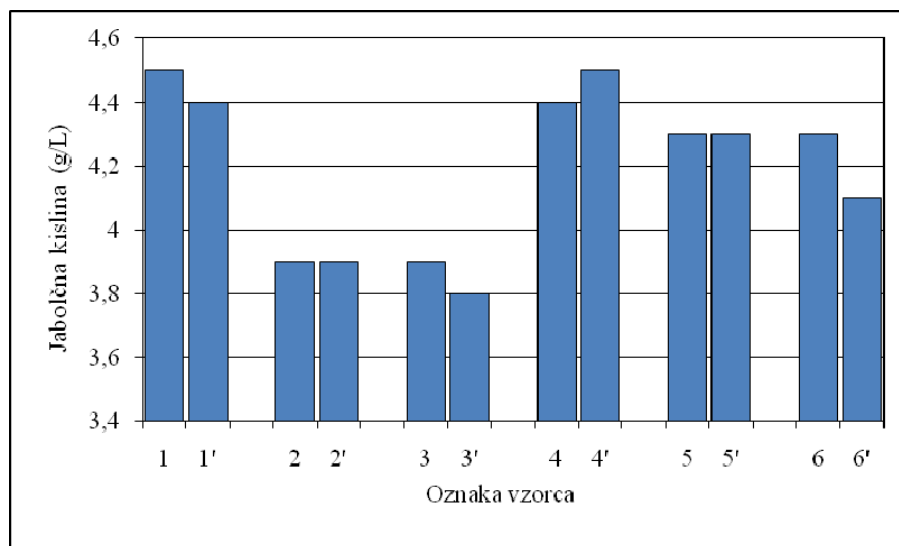


Slika 19: Vsebnost vinske kisline (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Vinska kislina je bila v vzorcih zastopana v razmeroma majhnih koncentracijah (slika 19). Vzorec 2 je imel največjo koncentracijo (3,8 g/L), najmanjša koncentracija vinske kisline pa je bila v vzorcu 6 (3,2 g/L). Razgradnja vinske kisline v večji meri bi pomenila kvar vina, ki bi se odražal v povišanih hlapnih kislinah, kar pa za naše vzorce ne moremo trditi. V povprečju pa je bila večja koncentracija vinske kisline v vzorcih, fermentiranih pri višji fermentacijski temperaturi.

4.2.16.2 Rezultati jabolčne kisline v vinu

Kemijsko gre za dekarboksilacijo L-jabolčne kisline v L-mlečno kislino pod vplivom malolaktičnega encimskega kompleksa. Pri tem se zmanjšajo skupne kisline vina, poviša se pH. Vino postane po okusu mehkejše, prijetnejše, saj je jabolčna kislina kislá, trpka in agresivna. Trajanje tega procesa je odvisno od razpoložljive količine jabolčne kisline in velikosti populacije mlečnokislinskih bakterij. Jabolčna kislina nastaja v listju vinske trte, in nato prehaja v grozdno jagodo. Tam se nato delno oksidira naprej do vode in ogljikovega dioksida (Šikovec, 1993). Jabolčna kislina se v grozdju nahaja v koncentraciji od 1 do 4 g/L mošta, v majhnih grozdnih jagodah v hladnih območjih pa njena koncentracija naraste tudi do 6 g/L.

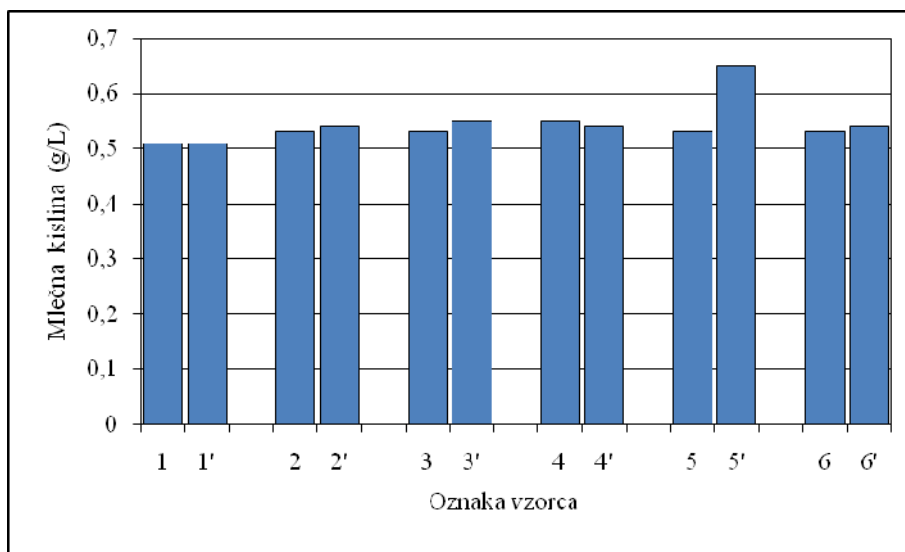


Slika 20: Vsebnost jabolčne kisline (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Vsi vzorci so imeli večjo koncentracijo jabolčne kisline (slika 20) v primerjavi z vinsko kislino. To je posledica slabše dozorelega grozdja, iz katerega je bil mošt pridelan. Večina vzorcev je vsebovala koncentracijo jabolčne kisline med 4,1 in 4,5 g/L, razen vzorci 2, 2', 3 in 3'. V teh vzorcih je koncentracija je znašala 3,9 g/L oziroma 3,8 g jabolčne kisline/L, kar nakazuje na sposobnost uporabljenih sevov kvasovk, da v svoj metabolizem vključijo tudi to kislino.

4.2.16.3 Rezultati mlečne kisline v vinu

Mlečna kislina lahko nastane med alkoholno fermentacijo kot posledica razgradnje ogljikovih hidratov (kot D-mlečna kislina) ali pa nastane z dekarboksilacijo jabolčne kisline v procesu biološkega razkisa (kot L-mlečna kislina). Njene soli (laktati) so topne in stabilne (Bavčar, 2006). Mlečne kisline je v vinu običajno med 0 in 2,5 g/L, izjemoma pa tudi več, če je potekel biološki razkis. Če so razmere neustrezne (nizka pH in temperatura), lahko zaradi nepravilnega biološkega razkisa nastanejo neželene hlapne komponente, takrat lahko govorimo o mlečnem ciku (Šikovec, 1993).

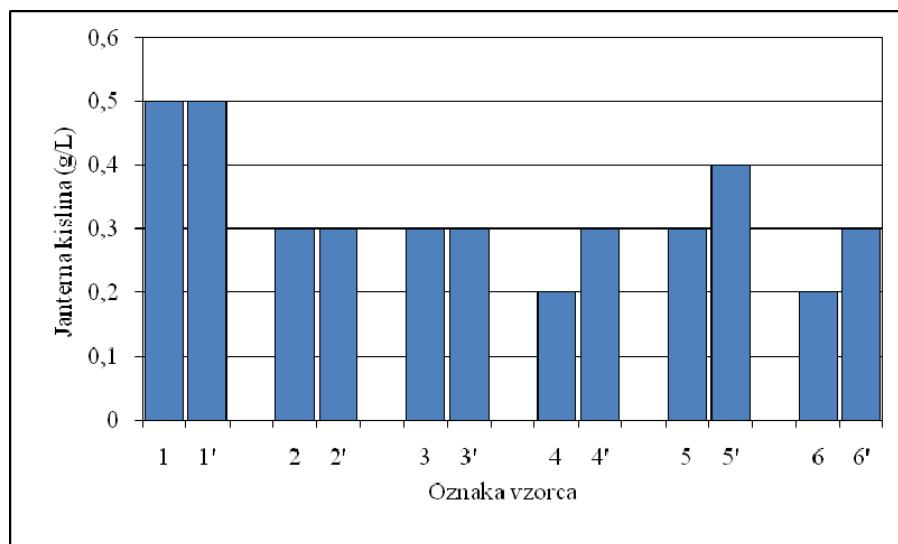


Slika 21: Vsebnost mlečne kisline (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Vzorci, pri katerih je alkoholna fermentacija potekala pri kontrolirani temperaturi, imajo le za malenkost manjšo koncentracijo mlečne kisline kot ostali vzorci. Največjo koncentracijo mlečne kisline smo izmerili pri vzorcu 5' (0,65 g/L). Koncentracija mlečne kisline ostalih vzorcev pa je bila v razponu med 0,51 in 0,55 g/L.

4.2.16.4 Rezultati jantarne kisline v vinu

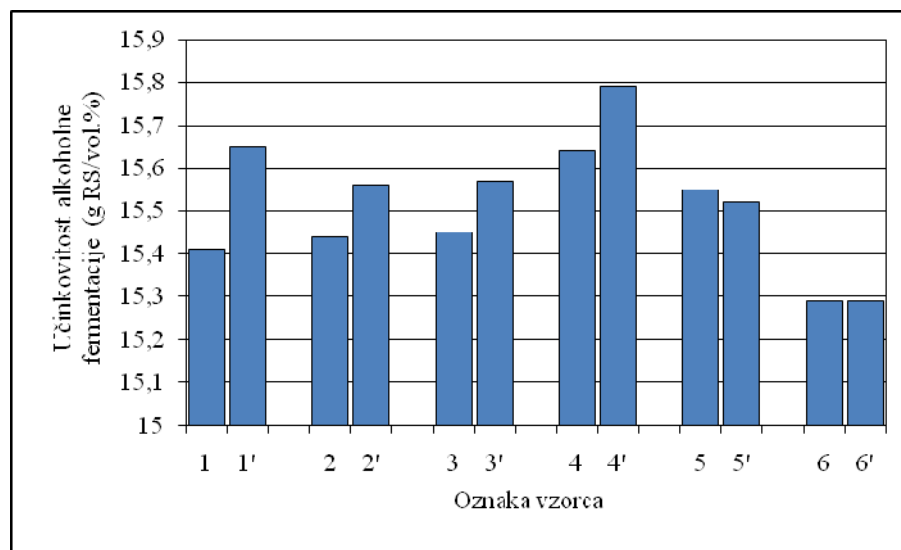
Jantarna kislina je produkt kvasovk, ki nastaja v ciklu trikarboksilnih kislin med alkoholno fermentacijo (Bavčar, 2006). Jantarna kislina deluje inhibitorno na mlečnokislinske bakterije in je v vinu prisotna v koncentracijah od 0,2 do 2 g/L (Košmerl, 1999).



Slika 22: Vsebnost jantarne kisline (g/L) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Od preiskovanih organskih kislin so imeli vsi vzorci najmanjšo koncentracijo jantarne kisline (slika 22), katere vsebnosti so bile v pričakovanem območju (0,2-2 g/L). Največjo vsebnost jantarne kisline sta imela vzorca 1 in 1' (0,5 g/L), najmanjšo pa vzorca 4 in 6 (0,2 g/L).

4.2.17 Učinkovitost fermentacije



Slika 23: Učinkovitost alkoholne fermentacije (g RS/vol.%) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Iz slike 23 je razvidno, da je bila največja učinkovitost fermentacije (grami reducirajočih sladkorjev, porabljeni za tvorbo 1 vol.% etanola) pri vzorcu 4' (15,79), najmanjša pa pri vzorcih 6 in 6' (15,29). Pri večini vzorcev je bila pričakovano večja učinkovitost fermentacije pri višji fermentacijski temperaturi (vzorci 1'-4'), izjema sta le vzorca 5' in 6'.

4.2.18 Rezultati hlapnih aromatičnih snovi v vinu

Koncentracija aromatičnih komponent v vinu je odvisna od več dejavnikov, kot so: okolje (klima in zemlja), sorta grozdja, stopnja zrelosti, fermentacijske razmere (pH, temperatura, raznovrstnost kvasovk), postopki predelave grozdja (enološke metode) in zorenje ter staranje vina (zorenje v steklenici).

Koncentracija vseh aromatičnih snovi v vinu je približno 0,8-1,2 g/L, kar je enako približno 1 % koncentracije etanola. Višji alkoholi, ki nastajajo med alkoholno fermentacijo, predstavljajo 50 % te vrednosti. Ostale aromatične komponente so zastopane v koncentracijah med 10^{-4} in 10^{-9} g/L. Prag zaznavanja določene aromatične spojine je tista najmanjša koncentracija, pri kateri je prišlo do odziva čutilnega organa in se zelo razlikuje med posameznimi spojinami; nihajo med 10^{-4} in 10^{-12} g/L.

Med alkoholno fermentacijo nastajajo poleg želenih tudi neželene aromatične snovi: aldehidi, hlapne organske žveplove spojine, vodikov disulfid, tioalkoholi, tioetri in tiolani, vendar v izredno majhnih koncentracijah, manj kot 1 mg/L (Košmerl, 2007b).

Seljak P. Vpliv ... kvasovk in fermentacijske temperature na sestavo in senzorično kakovost ... sauvignon.

Dipl. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 2011

Po končani fermentaciji smo določili aromatične spojine v pridelanem mladem vinu. Zaznane komponente v vinu so prikazane v preglednici 8.

Preglednica 8: Primerjalni rezultati aromatičnih snovi v mladem vinu, ki so bile kvalitativno določene v vzorcih vina (ploščina kromatografskega vrha/10⁶)

| Spojina | Oznaka vzorca | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|--------------|---------------|--------------|---------------|
| | 1 | 1' | 2 | 2' | 3 | 3' | 4 | 4' | 5 | 5' | 6 | 6' |
| etil acetat | 34,65 | 38,88 | 36,27 | 78,78 | 60,14 | 23,25 | 45,27 | 26,50 | 24,59 | 29,60 | 13,85 | 14,67 |
| 3-metilbutanol | 112,00 | 110,00 | 147,00 | 174,00 | 273,00 | 126,19 | 193,00 | 131,00 | 86,81 | 99,82 | 71,34 | 66,13 |
| 2-metilpropil acetat | 1,86 | 2,28 | 1,40 | 1,75 | 2,74 | 2,35 | 4,26 | 1,81 | 1,02 | 2,32 | 0,34 | 0,92 |
| etil butirat | 5,89 | 3,94 | 8,37 | 14,39 | 11,99 | 5,12 | 9,17 | 3,44 | 4,46 | 4,69 | 3,64 | 3,13 |
| izoamil acetat | 149,00 | 105,00 | 178,00 | 342,00 | 214,00 | 93,95 | 340,00 | 201,00 | 179,00 | 115,00 | 71,69 | 57,46 |
| heksanojska kislina | 14,69 | 11,97 | 10,97 | 13,79 | 13,02 | 16,61 | 14,80 | 5,67 | 0,53 | 10,88 | 5,31 | 3,38 |
| etil heksanoat | 97,89 | 73,82 | 101,00 | 226,00 | 203,00 | 89,18 | 169,00 | 64,89 | 67,41 | 100,36 | 114,00 | 92,86 |
| heksil acetat | 33,32 | 29,82 | 31,86 | 58,77 | 53,41 | 24,78 | 53,45 | 26,72 | 24,04 | 26,06 | 15,90 | 12,82 |
| benzaldehyd | 2,91 | 2,86 | 1,39 | 13,10 | 7,64 | 9,52 | 1,72 | 0,94 | 0,61 | 3,99 | 0,51 | 0,50 |
| linalool | 4,76 | 5,08 | 4,48 | 13,50 | 7,48 | 5,22 | 5,19 | 2,69 | 1,90 | 4,59 | 1,96 | 1,89 |
| metil oktanoat | 2,61 | 2,20 | 2,03 | 5,77 | 3,92 | 3,41 | 3,32 | 1,23 | 1,01 | 3,18 | 1,08 | 0,97 |
| oktanojska kislina | 64,01 | 51,98 | 25,87 | 33,86 | 51,92 | 56,31 | 76,09 | 28,46 | 9,45 | 31,16 | 8,14 | 6,99 |
| etil oktanoat | 651,00 | 535,00 | 377,00 | 876,00 | 789,00 | 635,59 | 634,00 | 370,00 | 306,00 | 508,95 | 290,00 | 235,00 |
| feniletanol | 42,73 | 35,94 | 49,52 | 79,26 | 81,95 | 78,32 | 75,28 | 51,64 | 11,93 | 40,16 | 16,59 | 16,24 |
| izopentil heksanoat | 0,66 | 2,54 | 2,36 | 4,39 | 4,99 | 3,25 | 3,09 | 1,47 | 1,21 | 2,80 | 1,30 | 1,13 |
| <i>p</i> -ment-1-en-8-ol | 4,60 | 5,29 | 2,74 | 5,81 | 5,69 | 5,96 | 3,05 | 1,95 | 1,33 | 3,98 | 0,97 | 1,12 |
| etil nonanoat | 8,42 | 5,34 | 2,37 | 10,72 | 12,77 | 3,89 | 3,34 | 2,32 | 3,32 | 6,46 | 1,00 | 0,98 |
| 2-feniletil acetat | 15,10 | 11,91 | 15,46 | 29,45 | 28,47 | 17,20 | 40,30 | 29,66 | 7,61 | 10,77 | 8,19 | 8,11 |
| etil dekanoat | 134,00 | 148,00 | 36,68 | 62,60 | 89,16 | 93,74 | 54,51 | 36,90 | 15,82 | 38,54 | 14,14 | 8,66 |
| izoamil oktanoat | 5,64 | 4,50 | 4,01 | 5,71 | 5,41 | 4,63 | 3,77 | 2,20 | 2,85 | 2,51 | 2,04 | 1,34 |
| beta-damascenon | 3,18 | 2,70 | 2,26 | 5,52 | 5,95 | 3,37 | 4,26 | 1,49 | 0,87 | 3,73 | 0,80 | 0,40 |
| etil dodekanoat | 4,51 | 4,80 | 2,36 | 9,94 | 5,29 | 1,10 | 3,76 | 2,48 | 2,12 | 3,02 | 1,79 | 1,09 |
| Skupna ploščina kromat. vrhov | 1393,5 | 1193,9 | 1043,4 | 2065,1 | 1930,9 | 1302,9 | 1740,6 | 994,5 | 758,9 | 1052,6 | 644,6 | 535,8 |

Z analizo hlapnih aromatičnih snovi s plinsko kromatografijo z masno-spektrometrično detekcijo (GC-MS) smo v vzorcih določili prisotnost etilnih in acetatnih estrov, višje alkohole, višje maščobne kisline, monoterpen linalool in druge.

Ester etanojske kisline in etanola etil acetat je bil prisoten v največji koncentraciji pri vzorcu 2', najmanjšo koncentracijo pa sta vsebovala vzorca 6 in 6'. Vzorci (1, 2, 5 in 6) so imeli manjše koncentracije kot isti vzorci, fermentirani na višji kontrolirani temperaturi (T).

Koncentracija 3-metilbutanola je bila večja pri vzorcih, fermentiranih pri nižji kontrolirani temperaturi (1, 3, 4 in 6), najmanjša pri višji fermentacijski T (1', 4' in 6'). Največjo koncentracijo je vseboval vzorec 2', najmanjšo vzorca 6 in 6'.

Etilni estri maščobnih kislin so prevladujoči estri v vinu in se tvorijo med alkoholno fermentacijo. Etilni estri maščobnih kislin narastejo šele pri dovolj visoki koncentraciji etanola. Vsebnost etil butirata, etil heksanoata, etil oktanoata in etil dodekanoata je bila največja pri vzorcu 2'. Pri vzorcu 6' smo določili najmanjšo koncentracijo etil butirata, etil oktanata, etil nonanoata, etil dekanoata in etil dodekanoata. Etil nonanoata je bilo prisotnega največ v vzorcu 1, ki je poleg vzorca 1' vseboval tudi največ etil dekanoata. Našteti etilni estri so se v večji koncentraciji tvorili pri vzorcih, fermentiranih pri nižji kontrolirani T (1, 3, 4 in 6).

Acetati višjih alkoholov so drugi najbolj zastopani estri v vinu, katerih tvorba prav tako narašča med fermentacijo. V vzorcih, ki so bili med alkoholno fermentacijo izpostavljeni nižji temperaturi, smo določili več izoamil acetata, heksil acetata in 2-feniletil acetata (1, 3, 4 in 6). Največ izoamil acetata in heksil acetata je bilo prisotnega v vzorcu 2', najmanj v vzorcu 6'. Koncentracija 2-feniletil acetata in 2-metilpropil acetata je bila največja pri vzorcu 4, najmanjšo prisotnost pa smo določili pri vzorcu 5 oziroma 6.

V vzorcih sta bili prisotni tudi dve višji maščobni kislini (MK); heksanojska in oktanojska kislina. Koncentracija višjih MK običajno med alkoholno fermentacijo narašča. Več maščobnih kislin je bilo prisotnih v vzorcih, fermentiranih pri višji nekontrolirani T (2', 3' in 5'). Največ heksanojske kisline je bilo v vzorcu 3', najmanj v 5. Največjo koncentracijo oktanojske kisline smo določili pri vzorcu 4, najmanj pa v vzorcu 6'.

Prisotnost benzaldehida je bila večja pri vzorcih, fermentiranih pri višji nekontrolirani T (2', 3' in 5') Najmanj aromatskega aldehida je nastalo pri vzorcu 6 in 6', absolutno največ pri 2'.

Estri acikličnih karboksilnih kislin metil oktanoat, izoamil oktanoat in izopentil oktanoat so bili prisotni v večji koncentraciji pri vzorcih, fermentiranih pri nižji kontrolirani temperaturi (3, 4 in 6). Največ metil oktanoata in izoamil oktanoata sta vsebovala vzorca 2' in 3, najmanj 6'. Metil oktanoata je bilo največ v vzorcu 2', najmanj v vzorcu 6', največ izopentil heksanoata je bilo prisotnega v vzorcu 3, najmanj v 1.

Največ aromatskega alkohola feniletanola sta vsebovala vzorca 2' in 3, najmanj pa 5. Manj feniletanola je nastalo pri vzorcih, fermentiranih na višji T (1', 3', 4' in 6').

Koncentracija monoterpena linaloola je bila največja pri vzorcu 2', najmanjša pri vzorcu 5. Njegova vsebnost je bila pri vzorcih, ki so fermentirali pri višji nekontrolirani temperaturi (1', 2' in 5') večja.

p-ment-1-en-8-ola je bilo najmanj v vzorcu 6, največ v 2' in 3'. Prisotnost *p*-ment-1-en-8-ola je bila večja v vzorcih, fermentiranih pri višji T (1', 2' 3' in 5').

Beta-damascenona je bilo največ v vzorcu 2' in 3, najmanj v vzorcu 6'. Aromatična spojina je bila v večji koncentraciji prisotna pri vzorcih, ki so fermentirali na nižji kontrolirani T (1, 3, 4 in 6).

Vsi vzorci so imeli skupno ploščino vseh kromatografskih vrhov večjo od $1000 \cdot 10^6$, razen vzorci 4', 5, 6 in 6'. Največ aromatičnih komponent je vseboval vzorec 2', najmanj 6'. Vzorci, fermentirani pri nižji kontrolirani temperaturi, so imeli večjo vsebnost aromatičnih spojin (1, 3, 4 in 6). Pri vzorcih, fermentirani na višji temperaturi, so se te komponente izgubile, posledično zaradi T.

Dobljene rezultate aromatičnih spojin smo primerjali z vsebnostjo aromatičnih spojin v vinu chardonnay (Košmerl in sod., 2008). Vsebnost etil acetata, etil oktanoata, etil dekanoata in etil dodekanoata je bila manjša v primerjavi s podatki, kot jih navajajo Košmerl in sodelavci (2008). Opaznejše povečane aromatične spojine smo določili pri linaloolu, feniletanolu, etil nonanoatu in izoamil oktanoatu. Vsebnost ostalih komponent, kot so heksanojska kislina, benzaldehid in izopentil heksanoat so bile manjše le pri vzorcih 4', 5, 6 in 6'. Etil heksanoata in heksil acetata je bilo največja pri vzorcu 2 in 3, več etil butirata so vsebovali vzorci 2, 2', 3 in 4. Aromatična spojina metil oktanoata je bilo manj v vzorcih 5, 6 in 6', oktanojske kisline v 2, 2', 4, 5, 5', 6 in 6'. Koncentracija 2-feniletil acetata je bila v primerjavi s podatki iz literature največja pri vzorcu 4.

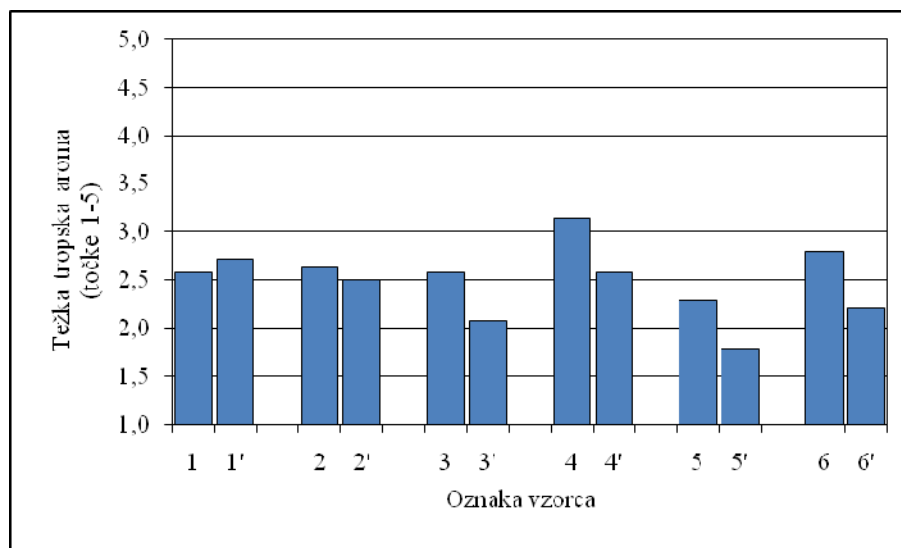
V prilogah (F-J) je s pomočjo kromatogramov prikazano, kakšne so razlike v tvorbi aromatičnih spojin pri kvasovki Level 2 in VL3 ter dveh različnih temperaturah (vzorci 2 in 2' ter 6 in 6').

4.2.19 Senzorično ocenjevanje vina

V praksi poznamo poleg senzorične še mikrobiološke in fizikalno-kemijske načine določanja kakovosti vina, vendar se kot najbolj realna ceni senzorična analiza (Vodopivec, 1993).

Kljub težavnemu letniku v vinogradu smo vino po končani alkoholni fermentaciji senzorično ocenili s pomočjo deskriptivne metode. Povprečje posameznih vzorcev je prikazano na slikah 24-27 in v prilogah. Dejansko smo uporabili analizni preskus in sicer preskus s pomočjo točkovanja na lestvici točk od 1 do 5 (1= najmanj izražena lastnost, 5= najbolj izražena lastnost). Posamezne lastnosti so bile izbrane glede na pričakovano značilnost vin sorte sauvignon: težka tropska aroma, sveža tropska aroma, fermentacijska aroma, prekrivanje sortnih arom in celokupna kakovost.

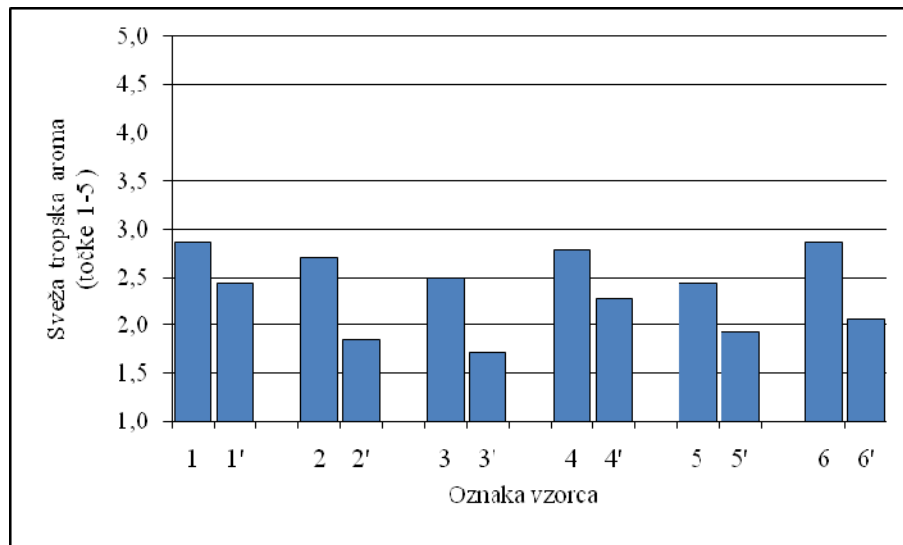
4.2.19.1 Težka tropska aroma



Slika 24: Ocenjevanje težke tropske arome (točke 1-5) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Slika 24 prikazuje ocenjevanje težke tropske arome, ki zajema aromo po pasijonki in mangu. Največjo povprečno oceno težke tropske arome je dobil vzorec 4 (3,1 t), najmanjšo pa vzorec 5' (1,8 t). Večina vzorcev, fermentiranih pri nižji temperaturi (ki jo tudi priporoča proizvajalec kvasovk), je imelo bolj izraženo težko tropsko aromo; izjema je le vzorec 1.

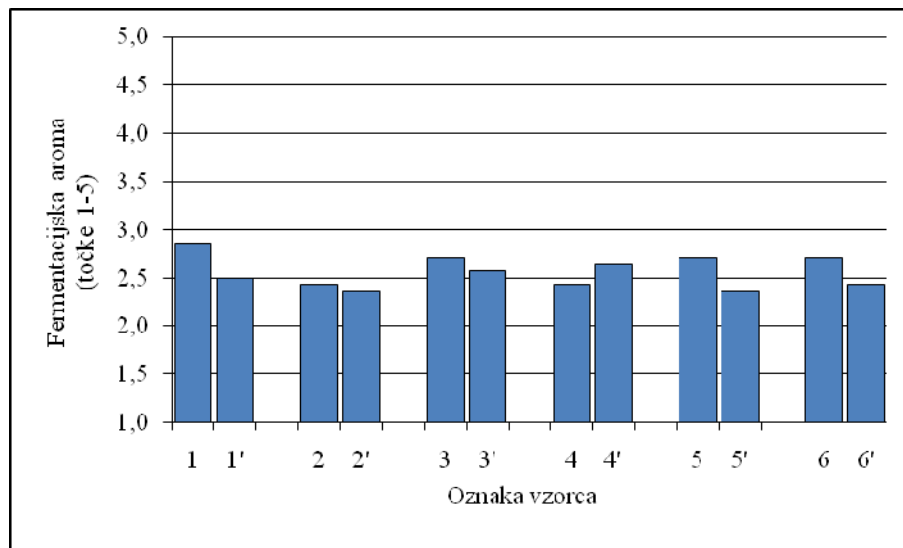
4.2.19.2 Sveža tropska aroma



Slika 25: Ocenjevanje sveže tropske arome (točke 1-5) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Slika 25 prikazuje ocenjevanje sveže tropske arome oziroma vonj po citrusih (po limoni in grenivki). Največjo povprečno oceno sveže tropske arome sta dobila vzorca 1 in 6 (2,9 t), najmanjšo oceno pa vzorec 3' (1,7 t). Brez izjeme je bila sveža tropska aroma izrazitejša v vinih, ki so fermentirala pri nižji temperaturi.

4.2.19.3 Fermentacijska aroma

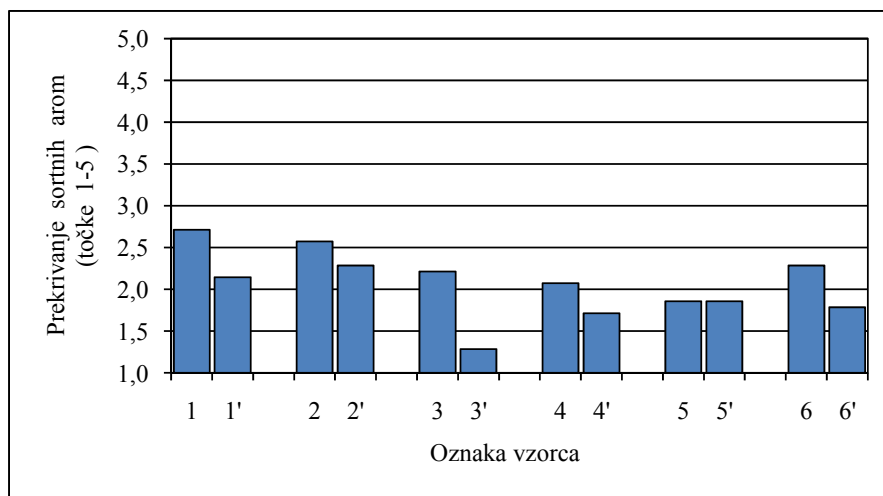


Slika 26: Ocenjevanje fermentacijske arome (točke 1-5) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Slika 26 prikazuje ocenjevanje fermentacijske arome oziroma arome po sadju (po jabolkih in hruškah). Rang ocene vseh vzorcev je bil med 2,4 in 2,9 t. V večji meri je bila

fermentacijska aroma ohranjena v vinih, ki so fermentirala pri nižji temperaturi; izjema je le vzorec 4.

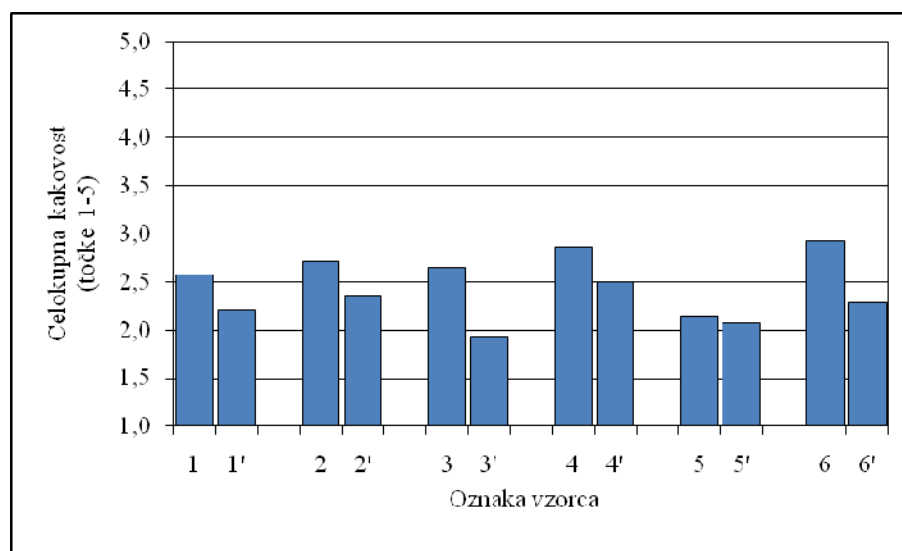
4.2.19.4 Prekrivanje sortnih arom



Slika 27: Ocenjevanje prekrivanja sortnih arom (točke 1-5) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Slika 27 prikazuje ocenjevanje prekrivanja sortnih arom oziroma vonj po zelenem (po zeleni papriki). Največjo oceno po tej aromi je imel vzorec 1 (2,7 t), najmanjšo oceno vzorec 3' (1,3 t). Vonj po zeleni papriki je bil bolj izrazit v vzorcih, ki so fermentirali pri nižji kontrolirani temperaturi.

4.2.19.5 Celokupna kakovost



Slika 28: Ocenjevanje celokupne kakovosti (točke 1-5) v vzorcih mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji s šestimi različnimi kvasovkami in dveh različnih fermentacijskih temperaturah

Slika 28 prikazuje ocenjevanje celokupne kakovosti oziroma ocenjevanje arome in okusa skupaj. Največjo oceno celokupne kakovost sta dobila vzorca 4 in 6 (2,9 t), najmanjšo oceno pa vzorec 3' (1,9 t). Absolutno najboljšo aromo in okus so imeli vzorci fermentirani pri nižji temperaturi.

Glede na dobljene rezultate lahko zaključimo, da sta bila senzorično najboljše ocenjena vzorca 4 in 6.

5 SKLEPI

V diplomski nalogi smo poskušali ugotoviti vpliv različnih sevov vinskih kvasovk in fermentacijske temperature na potek alkoholne fermentacije, kemijske in senzorične lastnosti mladega vina. Na osnovi opravljene raziskave smo prišli do naslednjih sklepov:

- Starterska kultura 6 je imela najslabše fermentacijske sposobnosti v danih razmerah fermentacije.
- Vsi vzorci pridelanih mladih vin so imeli vrednosti pH večje od vrednosti pH mošta ter v pričakovanem območju (manj kot 3,6).
- Dejanska pufna kapaciteta je bila manjša v vzorcih, fermentiranih pri nižji in kontrolirani fermentacijski temperaturi. Največjo vrednost je imel vzorec 3'.
- Koncentracije skupnih in titrabilnih kislin so bile v vseh vzorcih med 7 in 8 g/L, razen v vzorcih 1 in 1' je bila koncentracija večja od 8 g/L.
- Vrednosti relativne gostote so bile večje v vzorcih, ki so fermentirali pri višji kletni temperaturi, vendar pa so bile vse vrednosti v pričakovanem območju (okoli 1).
- Največjo koncentracijo alkohola je tvorila starterska kultura v vzorcih 6 in 6' (kjer je fermentacija potekala tudi najdlje), najmanjšo pa kultura v vzorcu 4'.
- Koncentraciji skupnega in sladkorja prostega ekstrakta sta bili večji v vzorcih, pri katerih je potekala alkoholna fermentacija pri višji kletni temperaturi. Največjo koncentracijo je vseboval vzorec 1'.
- Največjo koncentracijo reducirajočih sladkorjev smo določili pri vzorcu 3 in 3' (več kot 2 g/L), najmanjšo pa pri vzorcu 2' (1,15 g/L).
- Koncentracija prostega žveplovega dioksida se med vzorci ne razlikuje veliko, medtem ko je koncentracija vezanega žveplovega dioksida največja pri vzorcih 4 in 4', kjer je posledično tudi večja skupna koncentracija žveplovega dioksida.
- Starterska kultura pri vzorcu 1' je med alkoholno fermentacijo tvorila zakonsko prevelike koncentracije hlapnih kislin (1,20 g/L), ki pa senzorično niso bile zaznavne.
- Koncentracija prostega aminokislinskega dušika v vseh vzorcih pridelanih vin je bila manjša kot v moštu, kar je v skladu s pričakovanji. Najmanj FAN je za svojo rast porabila starterska kultura, dodana v vzorca 1 in 1', kar je lahko povezano tudi z obsežnejšo avtolizo kvasovk po zaključeni alkoholni fermentaciji.
- Koncentracija skupnih fenolnih snovi je bila med vzorci zelo podobna, le za malenkost odstopata vzorca 2 in 2'.
- Intenziteta barve (vrednost absorbance pri valovni dolžini 420 nm) vseh vzorcev vin je bila v območju med 0,250 in 0,300.
- Motnost se je med vzorci mladih vin razlikovala. Najbolj odstopa vzorec 6, kateremu smo izmerili motnost 140,5 NTU. Ostale vrednosti motnosti v vzorcih se gibljejo med 11,5 in 44,5 NTU.

- Koncentracija glukoze je bila v vseh vzorcih vin praktično enaka, medtem ko se je razlikovala koncentracija fruktoze. Največ fruktoze so porabile kvasovke pri vzorcih 2 in 2', najmanj pa pri vzorcih 3 in 3'.
- Koncentracija glicerola je bila po pričakovanjih večja v vzorcih, ki so bili izpostavljeni nekontrolirani višji temperaturi alkoholne fermentacije.
- Vsi vzorci so imeli od preiskovanih organskih kislin največ jabolčne kisline. Vsi vzorci so vsebovali več mlečne kot jantarne kisline. Koncentracija vinske kisline se med vzorci ni bistveno razlikovala.
- Vsebnosti aromatičnih snovi so se med vzorci razlikovale. Največ aromatičnih komponent sta vsebovala vzorca 2' in 3, kar senzorično nismo zaznali, najmanjšo ploščino aromatičnih spojin pa vzorec 6'.
- Pri senzorični oceni smo ocenjevali težko in svežo tropsko aromo, fermentacijsko aromo, prekrivanje sortnih arom ter celokupno kakovost vzorcev, kjer upoštevamo aromo in okus skupaj. V omenjeni parametrih so bili bolje ocenjeni vzorci, pri katerih je alkoholna fermentacija potekala pri kontrolirani nižji temperaturi. Glede na dobljene rezultate celokupne kakovosti sta bila najboljše ocenjena vzorca 4 in 6.

6 POVZETEK

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti vpliv različnih suhih aktivnih kvasovk na potek alkoholne fermentacije ter na izoblikovanje kemijskih in senzoričnih lastnosti vina.

Za izvedbo samega poskusa smo izbrali sorto sauvignon iz vinogradnega okoliša Štajerska Slovenija. Letnik 2010 ni bil optimalen za doseg vrhunske kakovosti vin. V času dozorevanja je padla zelo velika količina padavin, tudi temperature so bile precej nižje od dolgoletnih povprečij. Grozdje je doseglo polno zrelost kasneje, o prezrelosti pa bi težko govorili.

Trgatev in začetna predelava grozdja, vključno z bistenjem mošta, je bila opravljena v Ptujski kleti. Bister mošt je bil pripeljan v tehnološke prostore Biotehniške fakultete. Tu smo ga takoj pretočili v 12 fermentorjev ter ga inokulirali s šestimi različnimi starterskimi kulturami. Alkoholna fermentacija je potekala na dveh različnih temperaturah; prva temperatura je bila nižja in kontrolirana (pribl. 14 °C), druga pa je bila višja in nekontrolirana (pribl. 20 °C).

Po zaključeni alkoholni fermentaciji smo opravili osnovne fizikalno-kemijske meritve ter vino senzorično ocenili.

Vzorci, ki so bili med alkoholno fermentacijo izpostavljeni kontrolirani nižji temperaturi, so imeli manjšo koncentracijo glicerola, manjšo dejansko pufrno kapaciteto in relativno gostoto ter manjšo koncentracijo skupnega in sladkorja prostega ekstrakta v primerjavi z ostalimi vzorci. Zato je bila tudi učinkovitost fermentacije pri teh vzorcih slabša.

Vzorci, ki so bili med alkoholno fermentacijo izpostavljeni višji nekontrolirani temperaturi, so imeli manjšo koncentracijo alkohola in jabolčne kisline, kar se je kasneje odražalo v slabši senzorični oceni v primerjavi z ostalimi vzorci.

Glede na lastnosti kvasovk se je največ hlapnih kislin tvorilo pri vzorcu 1 in 1'. V vzorcih vin smo določili 22 hlapnih aromatičnih spojin. Največjo skupno ploščino so imeli vzorci 2', 3 in 4. V vzorcu 4 in 4' nismo določili povečane ploščine izoamil acetata, kot je značilno za sev kvasovke, ki jima je bila dodana.

Vzorca 1 in 1' sta imela največjo koncentracijo hlapnih kislin, jantarne kisline, glicerola in FAN. Vzorec 1' je imel najslabšo pretvorbo sladkorjev, kar se je pokazalo v povečani relativni gostoti.

Vzorca 2 in 2' sta vsebovala najmanjšo koncentracijo glukoze in fruktoze. Vzorec 2 je bil najbolj bogat z vinsko kislino. Vzorec 2' je vseboval najmanjšo koncentracijo prostega in vezanega žveplovega dioksida. Koncentracija fenolnih spojin je pri obeh vzorcih bila le za malenkost manjša od ostalih vzorcev.

Vzorca 3 in 3' sta vsebovala največjo vrednost pH, reducirajočih sladkorjev ter posledično tudi največjo relativno gostoto. Vzorec 3 je imel najmanjšo koncentracijo glicerola, kar se je poznalo na senzorični oceni vina.

Vzorca 4 in 4' sta imela najmanjšo vrednost pH, koncentracijo prostega aminokislinskega dušika in hlapnih kislin. Alkoholno sta bila najmanj bogata. Vsebovala sta največ žveplovega dioksida in jabolčne kisline. Učinkovitost alkoholne fermentacije je bila pri obeh vzorcih največja. Vzorec 4 je bil bogat z glicerolom, kar se je kasneje odražalo v dobri senzorični oceni.

Vzorca 5 in 5' nista izstopala pri nobeni analizi, le vzorec 5' je imel največjo koncentracijo mlečne kisline.

Vzorca 6 in 6' sta imela najmanjšo relativno gostoto, skupni in sladkorja prosti ekstrakt ter najmanjšo koncentracijo glicerola. Vzorca sta bila alkoholno najbolj bogata. Vzorec 6 je imel najmanjšo koncentracijo vinske kisline. Učinkovitost fermentacije je bila v primerjavi z ostalimi vzorci najslabša.

Dodane starterske kulture kvasovk v mošt so se po vseh opravljenih analizah najbolj razlikovale v tvorbi hlapnih aromatičnih snovi. Vzorci, fermentirani pri nižji kontrolirani temperaturi, so vsebovali večje količine aromatičnih komponent (1, 3, 4 in 6), absolutno največ komponent je bilo prisotnih v vzorcu 2'. Vse kvasovke so se izkazale idealne za tvorbo aromatičnih spojin, predvsem pri nižji temperaturi (14 °C), saj so bili ti vzorci senzorično kakovostnejši zaradi poudarjene sortnosti, ki se je pri višjih temperaturah izgubila. Vsi vzorci so imeli ploščino kromatograma večjo od $1000 \cdot 10^6$, razen vzorci 4', 5, 6 in 6'. To pomeni, da imajo vse kvasovke odličen potencial za tvorbo aromatičnih komponent, tako kot navajajo proizvajalci.

Večja koncentracija glicerola v mladem vinu se tvori pri višji T ter tako vpliva na končno senzorično oceno vina, kar pa zagotovo ne drži pri naših vzorcih, saj so bili senzorično slabše ocenjeni.

Glede na povečano koncentracijo oetne kisline pri vzorcu 1 in 1' nismo pričakovali večje tvorbe estrov, vendar sta kljub temu tvorila največ etil dekanooata.

Dodana kvasovka vrste *T. delbrueckii* pri vzorcu 2 in 2' je imela velik vpliv na tvorbo aromatičnih spojin, predvsem pri višji temperaturi.

Za kvasovko mutant ECA5 je značilno, da tvori večje količine izoamil acetata, največ ga je vseboval vzorec, izpostavljen nižji fermentacijski T.

Za kvasovko, ki smo jo dodali vzorcema 5 in 5' je značilno, da tvori več aromatičnih komponent pri nižji T, vendar jih je vzorec 5' vseboval absolutno več.

7 VIRI

- Anchor wine yeast. 2010. Anchor Exotics SPH. Cape Town, Anchor wine yeast: 2 str.
http://anchorwineyeast.com/enexotics_sph.html (21. dec. 2010)
- Bavčar D. 2006. Kletarjenje danes. Ljubljana, Kmečki glas: 66-105, 286-286
- Bisson L. F., Boulton R. B., Kunkee R. E., Singleton V. L. 1996. Principles and practices of winemaking. New York, Chapman & Hall: 76-88, 134-192
- Bisson L. F., Fraenkel G. G. 1983. Involvement of kinases in glucose and fructose uptake by *Saccharomyces cerevisiae*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 80: 1730-1723
- Blateyron L., Sablayrolles J. M. 2001. Stuck and slow fermentations in enology: Statistical study of causes and effectiveness of combined additions of oxygen and diammonium phosphate. Journal of Bioscience and Bioengineering, 91, 2: 184-189
- Boulton R.B., Singleton V. L., Bisson L. F. Kunkee R. E. 1996. Principles and practices of winemaking. New York, Chapman & Hall: 134-192
- Boyer R.F. 2005. Temelji biokemije. Ljubljana, Študentska založba: 394-411
- Fleet G.H. 2003. Yeast interactions and wine flavour. International Journal of Food Microbiology, 86: 11-22
- Fleet G.H., Heard G.M. 1992, Yeast – growth during fermentation V: Wine microbiology and biotechnology. Fleet G.H. (ed.). Camberwell, Harwood Academic Publishers: 27-55
- Fugelsang K.C. 1997. Wine microbiology. New York, Chapman & Hall: 117-142
- Golob T., Jamnik M. 2004. Vloga senzorične analize pri zagotavljanju varnosti živil. V: Varnost živil. 22. Bitenčevi živilski dnevi, Radenci, 18. in 19. mar. 2004. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 101-115
- Fleet G.H. 2008. Wine yeasts for the future. Sydney, School of Chemical Sciences and Engineering, University of New South Wales: 15-17
http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/Wine_yeasts_for_the_future_7294.pdf
(21. dec. 2010)
- Henschke P. A., Jiranek V. 1992. Metabolism of nitrogen compounds. V: Wine microbiology and biotechnology. Fleet G. H. (ed.). Camberwell, Harwood Academic Publishers: 77-165
- Jiranek V., Langridge P., Henschke P.A. 1995. Amino acid and ammonium utilization by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts from chemically defined medium. American Journal of Enology & Viticulture, 46, 1: 75-83

Jurana. 2008. Lallemand; selekcionirano iz narave. Maribor, Jurana: podjetje za agrarna proučevanja: 17 str.

http://www.jurana.com/enolo_ka_sredstva.html (21. dec. 2010)

King E., Swiegers H., Travis B. Francis L., Pretorius S., Connors P. 2007. Modulating Sauvignon Blanc aroma through co-inoculated fermentations. Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker, 225: 102-108

Klenar I. 2002. Ali lahko starterske kulture kvasovk pripomorejo h kakovostni fermentaciji? V: Pomen mikrobiologije in biotehnologije v proizvodnji vina. Raspor P. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 21-29

Košmerl T. 1999. Reološke lastnosti vina. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 106 str.

Košmerl T. 2003. Pomen hranilnih snovi za optimalen potek alkoholne in jabolčno-mlečnokislinske fermentacije. V: Vinarski dan, Ljubljana, 12. junij 2003. Marinček L. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 13-35

Košmerl T. 2007a. Alkoholna fermentacija mošta: izbrana poglavja pri predmetu Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 95 str.

Košmerl T. 2007b. Senzorične lastnosti mošta in vina: študijsko gradivo za pokuševalce vina, mošta in drugih proizvodov iz grozdja in vina. 2. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 60 str.

Košmerl T. 2008. Vpliv dušikovih spojin grozdja na kinetiko alkoholne fermentacije. Zapiski predavanj pri predmetu Enologija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo (26. mar. 2008)

Košmerl T., Jakončič M., Kralj Cigič I., Strlič M., Prosen H. 2008. Aroma compounds in "sur lies" produced and aged Chardonnay wines. V: 31 Congresso mondiale della vigna e del vino, Verona, Italia, 15-20 Guigno 2008. Roma, Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali: 1-9

Košmerl T. 2010. »Zapiski iz laboratorijskih vaj«. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo (20. dec. 2010)

Košmerl T., Kač M. 2007. Osnovne kemijske analize mošta in vina: laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. 3. izd. Popravljen in dopolnjen. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 106 str.

Košmerl T., Wondra M. 2007. Senzorično in kemijsko ovrednotenje bistrosti vina. V: Vinarski dan. Ljubljana, 6. junij 2007. Čuš F., Marinček L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 106 str.

Laffort. 2009. Zymaflore VL3. Bordeaux, Laffort: L'oenologie par nature. 2 str.

<http://www.laffort.com/en/products/zymaflore-yeasts> (21. dec. 2010)

Navodilo o fizikalnokemijskih analizah mošta in vina. 2001. Uradni list Republike Slovenije, 11, 43: 4788-4806

- Nemanič J. 1996. Spoznajmo vino. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 46-47, 88-88, 100-100
- Patel S., Shibamoto T. 2002. Effect of different strains of *Saccharomyces cerevisiae* on production of volatiles in Napa Gamay wine and Petite Sirah wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5649-5653
- Pravilnik o spremembah in dopolnitvah Pravilnika o pogojih, ki jih mora izpolnjevati grozdje za predelavo v vino, o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za predelavo vina in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu. 2005. Uradni list Republike Slovenije, 15, 112: 12183-12183
- Pravilnik o pogojih, ki mora izpolnjevati grozdje za predelavo v vino o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za predelavo vina in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 43: 5336-5357
- Prosen H., Strlič M., Rusjan D., Košmerl T. 2007. Aroma grozdja in vina - razvoj kemijske analitike za kontrolo kvalitete. *Vinarski dan*, Ljubljana, 6. junij 2007. Čuš F., Marinček L. (ur.). Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 75-84
- Rapp A, Versini G. 1991. Metabolisme de l'azote. Voies metabolique. La levure de fermentation alcoolique. V: *Oenologie: Fondements scientifique et technologique*. Flanzy C. (ed.). Paris, Collection Sciences et Technique Agroalimentaires: 425-426
- Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B., Lanvaud A. 2000. Handbook of enology. Vol. 1: The microbiology of wine and vinification. Chichester, John Wiley&Sons: 454 str.
- Romano P., Fiore C., Paraggio M., Capece A. 2003. Function of yeast species and strain in wine flavour. *International Journal of Food Microbiology*, 86: 169-180
- Salmon J. M. 1989. Effect of sugar transport inactivation in *Saccharomyces cerevisiae* on sluggish and stuck enological fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 4: 953-958
- Scheinder A., Gerbi V., Redoglia M. 1987. A rapid HPLC method for separation and determination of major organic acids in grape must and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38, 2: 151-155
- Scott laboratories. 2006. Premium yeast. Pickering, Scott laboratories: Alchemy 2: 1 str.
<http://www.scottlab.com/products-11.aspx> (21. dec. 2010)
- Šikovec S. 1993. Vinarstvo. Od grozdja do vina. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 8-93
- Šikovec S. 1987. Za vsakogar nekaj o vinu. Ljubljana, ČGP Kmečki glas: 204 str.
- Thorngate J.H. 1998. Yeast strain and wine flavour: nature or nurture. V: *Chemistry of wine flavour*. Waterhouse A.L., Ebeler E.E. (ed.). Washington, DC, Oxford University Press: 66-88

Seljak P. Vpliv ... kvasovk in fermentacijske temperature na sestavo in senzorično kakovost ... sauvignon.
Dipl. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 2011

Vodopivec M. 1993. Kako pripravimo dobro vino. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano Republike Slovenije, Republiška uprava za pospeševanje kmetijstva: 144 str.

Wondra M. 2007. Zapiski predavanj pri predmetu Tehnologija vina. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo (22. nov. 2007)

Wondra M. 1998. Vpliv kvasovk na senzorične lastnosti vina. V: Vinogradništvo-vinarski dan. Ljubljana, 30. januar. Marinček L. (ur.). Ljubljana, Kemijski inštitut Slovenije: 64-75

ZAHVALA

Za vso strokovno pomoč, potrpežljivost ter skrbnemu pregledu moje diplomske naloge se iskreno zahvaljujem mentorici prof. dr. Tatjani Košmerl in somentorici doc. dr. Heleni Prosen za opravljeno analizo hlapnih aromatičnih spojin.

Za pomoč pri laboratorijskem delu se zahvaljujem Zdenki Zupančič.

Hvala ga. Lini Burkan pri urejanju literature.

Hvala mojima staršema, ker sta mi omogočila študij in me ves čas podpirala. Hvala tudi sestri Irmu za vzpodbudne besede. Zahvaljujem se tašči in tastu pri varstvu otroka.

Posebna zahvala pa tudi mojemu Ladu in hčerkici Lari, da sta bila v času mojega študija pripravljena potrpeti in me deliti s knjigami ter tako pomagala priti do cilja.

PRILOGE

Priloga A: Rezultati fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji v vzorcih I in I'

| Parameter | Enota | Vrednost/koncentracija | |
|-----------------------------|--------------------|------------------------|-------------|
| | | I | I' |
| vrednost pH | / | 3,36±0,002 | 3,38±0,0007 |
| pufrna kapaciteta | mmol/L/pH | 44,9±0,5 | 47,9±1,0 |
| titrabilne kisline (pH=7,0) | g vinske kisline/L | 8,10±0,004 | 8,26±0,004 |
| skupne kisline (pH=8,2) | g vinske kisline/L | 8,50±0,07 | 8,63±0,001 |
| reducirajoči sladkorji | g/L | 1,58±0,16 | 1,65±0,00 |
| relativna gostota | / | 0,99409 | 0,99467 |
| alkohol | vol. % | 10,92 | 10,75±0,06 |
| skupni ekstrakt | g/L | 22,42±0,02 | 23,46±0,23 |
| sladkorja prosti ekstrakt | g/L | 21,32±0,02 | 22,34±0,23 |
| prosti žveplov dioksid | mg/L | 10 | 10 |
| skupni žveplov dioksid | mg/L | 26 | 26 |
| hlapne kisline | g očetne kisline/L | 0,99±0,02 | 1,25±0,16 |
| FAN | mg N/L | 67,75±1,68 | 74,88±1,68 |
| skupne fenolne spojine | mg galne kisline/L | 252±5 | 259±5 |
| intenziteta barva | / | 0,273±0,005 | 0,280±0,005 |
| motnost | NTU | 30,1±0,92 | 11,9±0,0 |
| fruktoza | g/L | 1,5 | 1,7 |
| glukoza | g/L | 0,9 | 0,9 |
| glicerol | g/L | 6,12 | 6,62 |
| vinska kislina | g/L | 3,6 | 3,5 |
| jabolčna kislina | g/L | 4,5 | 4,4 |
| mlečna kislina | g/L | 0,51 | 0,51 |
| jantarna kislina | g/L | 0,5 | 0,5 |
| učinkovitost fermentacije | g RS/vol. % | 15,41 | 15,65 |
| težka tropska aroma | točke | 2,6 | 2,7 |
| sveža tropska aroma | točke | 2,9 | 2,4 |
| fermentacijska aroma | točke | 2,9 | 2,5 |
| prekrivanje sortnih arom | točke | 2,7 | 2,1 |
| celokupna kakovost | točke | 2,6 | 2,2 |

Priloga B: Rezultati fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji v vzorcih 2 in 2'

| Parameter | Enota | Vrednost/koncentracija | |
|-----------------------------|--------------------|------------------------|-------------|
| | | 2 | 2' |
| vrednost pH | / | 3,37 | 3,37 |
| pufna kapaciteta | mmol/L/pH | 44,7±2,1 | 45,5±1,9 |
| titrabilne kisline (pH=7,0) | g vinske kisline/L | 7,33±0,04 | 7,34±0,04 |
| skupne kisline (pH=8,2) | g vinske kisline/L | 7,61±0,06 | 7,62±0,02 |
| reducirajoči sladkorji | g/L | 1,35 | 1,15 |
| relativna gostota | / | 0,99398 | 0,99412 |
| alkohol | vol. % | 10,92±0,03 | 10,85±0,05 |
| skupni ekstrakt | g/L | 22,22±0,23 | 22,35±0,37 |
| sladkorja prosti ekstrakt | g/L | 21,12±0,23 | 21,25±0,37 |
| prosti žveplov dioksid | mg/L | 7 | 7 |
| skupni žveplov dioksid | mg/L | 23 | 17 |
| hlapne kisline | g očetne kisline/L | 0,485±0,078 | 0,475±0,007 |
| FAN | mg N/L | 50,31 | 51,21±3,78 |
| skupne fenolne spojine | mg galne kisline/L | 239,5±13,43 | 235,5±6,4 |
| intenziteta barve | / | 0,261±0,014 | 0,257±0,006 |
| motnost | NTU | 32,7±0,28 | 29,9±0,21 |
| fruktoza | g/L | 1,2 | 1,2 |
| glukoza | g/L | 0,9 | 0,9 |
| glicerol | g/L | 5,43 | 5,59 |
| vinska kislina | g/L | 3,8 | 3,6 |
| jabolčna kislina | g/L | 3,9 | 3,9 |
| mlečna kislina | g/L | 0,53 | 0,54 |
| jantarna kislina | g/L | 0,3 | 0,3 |
| učinkovitost fermentacije | g RS/vol. % | 15,43 | 15,56 |
| težka tropska aroma | točke | 2,6 | 2,5 |
| sveža tropska aroma | točke | 2,7 | 1,9 |
| fermentacijska aroma | točke | 2,4 | 2,4 |
| prekrivanje sortnih arom | točke | 2,6 | 2,3 |
| celokupna kakovost | točke | 2,7 | 2,4 |

Priloga C: Rezultati fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji v vzorcih 3 in 3'

| Parameter | Enota | Vrednost/koncentracija | |
|-----------------------------|--------------------|------------------------|-------------|
| | | 3 | 3' |
| vrednost pH | / | 3,38 | 3,40 |
| pufna kapaciteta | mmol/L/pH | 47,0±2,0 | 48,4±0,4 |
| titrabilne kisline (pH=7,0) | g vinske kisline/L | 7,31±0,05 | 7,06±0,005 |
| skupne kisline (pH=8,2) | g vinske kisline/L | 7,63±0,07 | 7,29±0,02 |
| reducirajoči sladkorji | g/L | 2,20 | 2,05 |
| relativna gostota | / | 0,99444 | 0,99455 |
| alkohol | vol. % | 10,85 | 10,78 |
| skupni ekstrakt | g/L | 23,02±0,45 | 22,95±0,52 |
| sladkorja prosti ekstrakt | g/L | 21,92±0,45 | 21,85±0,52 |
| prosti žveplov dioksid | mg/L | 8 | 9 |
| skupni žveplov dioksid | mg/L | 22 | 20 |
| hlapne kisline | g očetne kisline/L | 0,555±0,035 | 0,555±0,035 |
| FAN | mg N/L | 60,22 | 56,86±0,84 |
| skupne fenolne spojine | mg galne kisline/L | 273±11,31 | 276±1,41 |
| intenziteta barve | / | 0,294±0,011 | 0,297±0,001 |
| motnost | NTU | 22,0 | 44,8 |
| fruktoza | g/L | 1,7 | 1,7 |
| glukoza | g/L | 0,9 | 1 |
| glicerol | g/L | 5,47 | 5,93 |
| vinska kislina | g/L | 3,4 | 3,6 |
| jabolčna kislina | g/L | 3,9 | 3,8 |
| mlečna kislina | g/L | 0,53 | 0,55 |
| jantarna kislina | g/L | 0,3 | 0,3 |
| učinkovitost fermentacije | g RS/vol. % | 15,45 | 15,57 |
| težka tropska aroma | točke | 2,6 | 2,1 |
| sveža tropska aroma | točke | 2,5 | 1,7 |
| fermentacijska aroma | točke | 2,7 | 2,6 |
| prekrivanje sortnih arom | točke | 2,2 | 1,3 |
| celokupna kakovost | točke | 2,6 | 1,9 |

Priloga D: Rezultati fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji v vzorcih 4 in 4'

| Parameter | Enota | Vrednost/koncentracija | |
|-----------------------------|--------------------|------------------------|-------------|
| | | 4 | 4' |
| vrednost pH | / | 3,33 | 3,32 |
| pufna kapaciteta | mmol/L/pH | 47,0±2,12 | 47,2±1,03 |
| titrabilne kisline (pH=7,0) | g vinske kisline/L | 7,47±0,008 | 7,72±0,007 |
| skupne kisline (pH=8,2) | g vinske kisline/L | 7,75±0,013 | 7,93±0,007 |
| reducirajoči sladkorji | g/L | 1,75 | 1,76±0,04 |
| relativna gostota | / | 0,99419 | 0,99458 |
| alkohol | vol. % | 10,75±0,06 | 10,65±0,02 |
| skupni ekstrakt | g/L | 22,14±0,13 | 22,91±0,04 |
| sladkorja prosti ekstrakt | g/L | 21,04±0,13 | 21,81±0,04 |
| prosti žveplov dioksid | mg/L | 7 | 9 |
| skupni žveplov dioksid | mg/L | 40 | 44 |
| hlapne kisline | g očetne kisline/L | 0,415±0,106 | 0,415±0,007 |
| FAN | mg N/L | 37,59±1,06 | 38,58±0,35 |
| skupne fenolne spojine | mg galne kisline/L | 271±5 | 278±0,70 |
| intenziteta barve | / | 0,292±0,006 | 0,299 |
| motnost | NTU | 18,8±0,28 | 21,2±0,35 |
| fruktoza | g/L | 1,6 | 1,6 |
| glukoza | g/L | 0,9 | 0,9 |
| glicerol | g/L | 5,48 | 6,24 |
| vinska kislina | g/L | 3,4 | 3,5 |
| jabolčna kislina | g/L | 4,4 | 4,5 |
| mlečna kislina | g/L | 0,55 | 0,54 |
| jantarna kislina | g/L | 0,2 | 0,3 |
| učinkovitost fermentacije | g RS/vol. % | 15,64 | 15,79 |
| težka tropska aroma | točke | 3,1 | 2,1 |
| sveža tropska aroma | točke | 2,8 | 2,3 |
| fermentacijska aroma | točke | 2,4 | 2,6 |
| prekrivanje sortnih arom | točke | 2,1 | 1,7 |
| celokupna kakovost | točke | 2,9 | 2,5 |

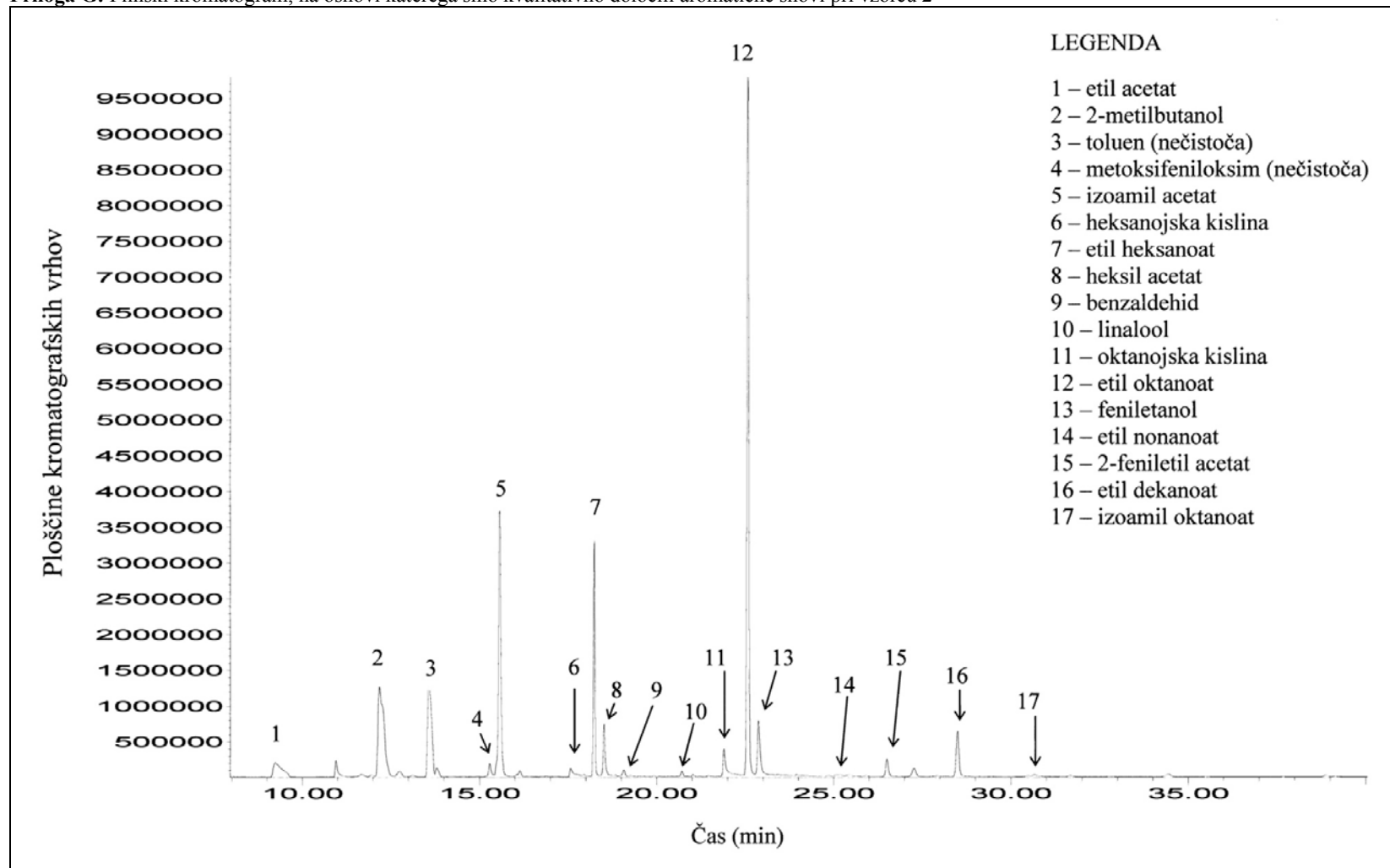
Priloga E: Rezultati fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji v vzorcih 5 in 5'

| Parameter | Enota | Vrednost/koncentracija | |
|-----------------------------|--------------------|------------------------|------------|
| | | 5 | 5' |
| vrednost pH | / | 3,36 | 3,36 |
| pufna kapaciteta | mmol/L/pH | 45,2±0,65 | 47,8±1,44 |
| titrabilne kisline (pH=7,0) | g vinske kisline/L | 7,28±0,007 | 7,63±0,01 |
| skupne kisline (pH=8,2) | g vinske kisline/L | 7,50±0,006 | 7,87±0,02 |
| reducirajoči sladkorji | g/L | 1,33±0,03 | 1,25 |
| relativna gostota | / | 0,99379 | 0,99420 |
| alkohol | vol. % | 10,84±0,03 | 10,87±0,05 |
| skupni ekstrakt | g/L | 21,35±0,01 | 22,68±0,31 |
| sladkorja prosti ekstrakt | g/L | 20,43±0,01 | 21,58±0,31 |
| prosti žveplov dioksid | mg/L | 10 | 9 |
| skupni žveplov dioksid | mg/L | 30 | 28 |
| hlapne kisline | g oetne kisline/L | 0,58±0,01 | 0,65±0,04 |
| FAN | mg N/L | 52,10±0,84 | 56,56±0,42 |
| skupne fenolne spojine | mg galne kisline/L | 265±6,4 | 267 |
| intenziteta barve | / | 0,286±0,006 | 0,288 |
| motnost | NTU | 23,8±0,35 | 19,5±1,27 |
| fruktoza | g/L | 1,4 | 1,4 |
| glukoza | g/L | 0,8 | 0,9 |
| glicerol | g/L | 5,73 | 6,10 |
| vinska kislina | g/L | 3,4 | 3,5 |
| jabolčna kislina | g/L | 4,3 | 4,3 |
| mlečna kislina | g/L | 0,53 | 0,65 |
| jantarna kislina | g/L | 0,3 | 0,4 |
| učinkovitost fermentacije | g RS/vol. % | 15,55 | 15,52 |
| težka tropska aroma | točke | 2,3 | 1,8 |
| sveža tropska aroma | točke | 2,4 | 1,9 |
| fermentacijska aroma | točke | 2,7 | 2,4 |
| prekrivanje sortnih arom | točke | 1,9 | 1,9 |
| celokupna kakovost | točke | 2,1 | 2,1 |

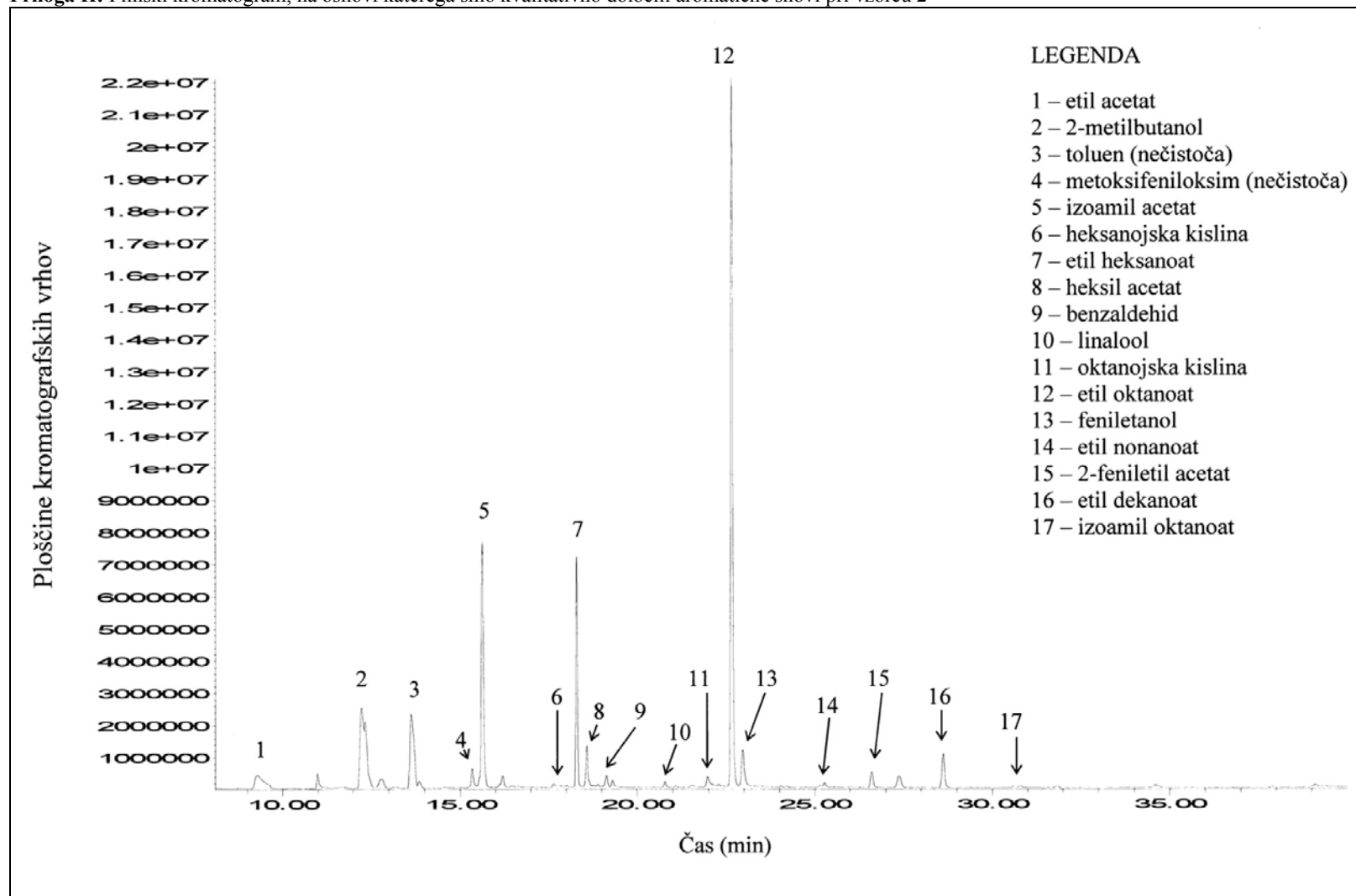
Priloga F: Rezultati fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz mladega vina po zaključeni alkoholni fermentaciji v vzorcih 6 in 6'

| Parameter | Enota | Vrednost/koncentracija | |
|-----------------------------|--------------------|------------------------|-------------|
| | | 6 | 6' |
| vrednost pH | / | 3,36±0,0007 | 3,36±0,001 |
| pufna kapaciteta | mmol/L/pH | 44,5±0,47 | 45,2±0,48 |
| titrabilne kisline (pH=7,0) | g vinske kisline/L | 7,28±0,007 | 7,47±0,002 |
| skupne kisline (pH=8,2) | g vinske kisline/L | 7,47±0,002 | 7,75±0,005 |
| reducirajoči sladkorji | g/L | 1,83±0,04 | 1,38±0,04 |
| relativna gostota | / | 0,99367 | 0,99378 |
| alkohol | vol. % | 10,99±0,08 | 11,02 |
| skupni ekstrakt | g/L | 21,66±0,37 | 21,91±0,007 |
| sladkorja prosti ekstrakt | g/L | 20,56±0,37 | 20,81±0,007 |
| prosti žveplov dioksid | mg/L | 9 | 8 |
| skupni žveplov dioksid | mg/L | 40 | 35 |
| hlapne kisline | g oetne kisline/L | 0,64±0,04 | 0,60±0,01 |
| FAN | mg N/L | 57,15±0,42 | 53,29±0,84 |
| skupne fenolne spojine | mg galne kisline/L | 271±5 | 251±11 |
| intenziteta barve | / | 0,292±0,0005 | 0,272±0,011 |
| motnost | NTU | 141,5±0,71 | 11,9±0,21 |
| fruktoza | g/L | 1,7 | 1,4 |
| glukoza | g/L | 0,9 | 0,9 |
| glicerol | g/L | 4,47 | 4,93 |
| vinska kislina | g/L | 3,2 | 3,5 |
| jabolčna kislina | g/L | 4,3 | 4,1 |
| mlečna kislina | g/L | 0,53 | 0,54 |
| jantarna kislina | g/L | 0,2 | 0,3 |
| učinkovitost fermentacije | g RS/vol. % | 15,29 | 15,29 |
| težka tropska aroma | točke | 2,8 | 2,2 |
| sveža tropska aroma | točke | 2,9 | 2,1 |
| fermentacijska aroma | točke | 2,7 | 2,4 |
| prekrivanje sortnih arom | točke | 2,3 | 1,8 |
| celokupna kakovost | točke | 2,9 | 2,3 |

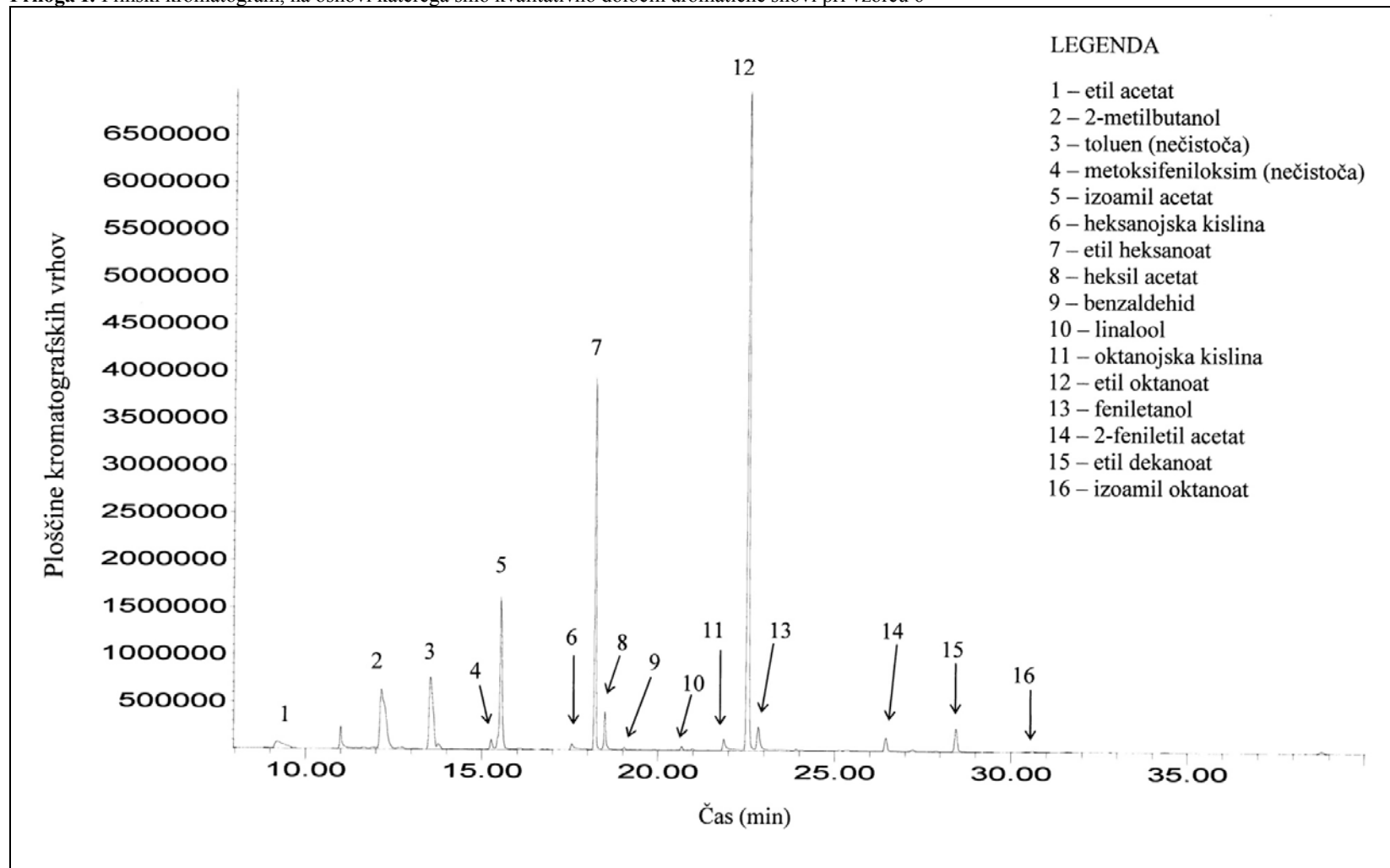
Priloga G: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu 2



Priloga H: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu 2'



Priloga I: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu 6



Priloga J: Plinski kromatogram, na osnovi katerega smo kvalitativno določili aromatične snovi pri vzorcu 6'

